

Aus der Abteilung für Kinderpathologie am
Pathologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

DER EMC-VIRUS-INDUZIERTER DIABETES MELLITUS DER MAUS

Untersuchungen zur Ursache spontaner Änderungen der
Pathogenität eines Virus-Pools

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Volker Ibing
aus Hattingen
Mainz ~~1983~~

1984



Aus der Abteilung für Kinderpathologie am
Pathologischen Institut der
Johannes Gutenberg-Universität in Mainz

DER EMC-VIRUS-INDUZIERTER DIABETES MELLITUS DER MAUS

Untersuchungen zur Ursache spontaner Änderungen der
Pathogenität eines Virus-Pools

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz
dem Fachbereich Medizin vorgelegt

von Volker Ibing
aus Hattingen
Mainz 1983

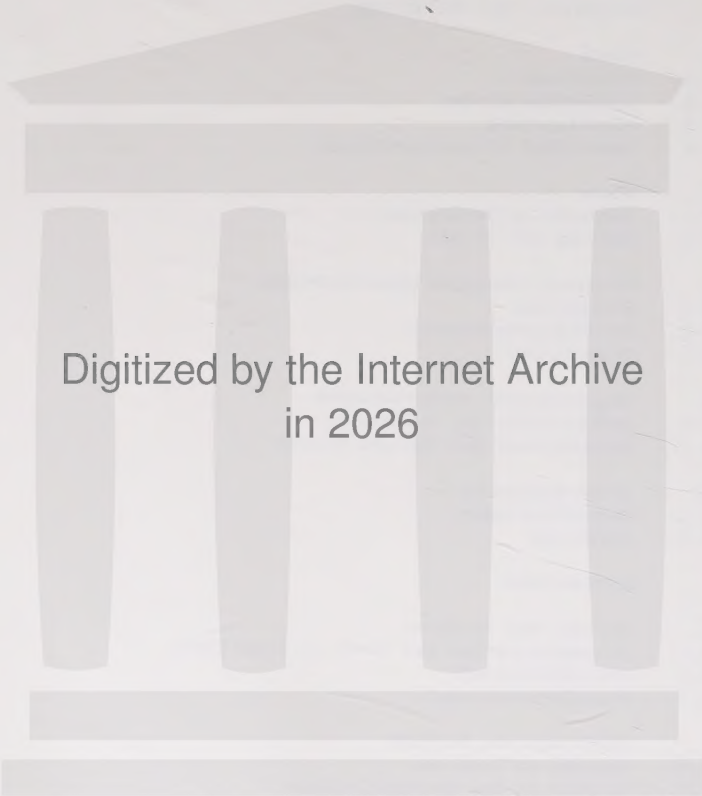
Dekan: Prof. Dr.Dr. W. Ketterl
1. Gutachter: Prof. Dr. H. Müntefering
2. Gutachter: Priv. Doz. Dr. Becker

Tag der mündlichen Prüfung: **23. MAI. 1984**

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Die Virusgenese des Diabetes mellitus bei Mäusen	1
1.2.	Zur Problematik der Manifestationshäufigkeit des exp. Diabetes	1
1.3.	Problemstellung	2
2.	MATERIAL UND METHODEN	3
2.1.	Virus	3
2.1.1.	Virusstamm	3
2.1.2.	Virusaufbereitung	3
2.1.3.	Viruslagerung	4
2.1.4.	Verwendete Virussuspensionen	4
2.2.	Tiere	5
2.2.1.	Verwendeter Mäusestamm	5
2.2.2.	Haltung und Pflege	5
2.3.	Klinisch chemische Untersuchungen	6
2.3.1.	Blutglucose	6
2.3.2.	Antikörperbestimmung	6
2.3.3.	Uringlucose	6
2.4.	Histologische Untersuchungen	6
2.4.1.	Aufbereitung der Pankreata	6
2.4.2.	Aufbereitung der übrigen Organe	7
2.5.	Versuchsplanung	7
2.5.1.	Versuchsgruppen	7
2.5.2.	Infektion	8
3.	ERGEBNISSE	10
3.1.	Verlauf des Versuchs	10
3.1.1.	Allgemeinzustand der Tiere im Experiment	10
3.1.2.	Gewichtsverläufe	12
3.1.3.	Blutglucosespiegel	18
3.2.	Histologische Befunde	18
3.2.1.	Befunde am Pankreas	18
3.2.2.	Befunde an den übrigen Organen	19
4.	DISKUSSION	22
5.	ZUSAMMENFASSUNG	27
6.	ABBILDUNGEN	29
7.	LITERATURVERZEICHNIS	35
8.	ANLAGEN	
	LEBENS LAUF	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DER EMC-VIRUS INDUZIERTER DIABETES MELLITUS DER MAUS

Untersuchung zur Ursache spontaner Änderungen
der Pathogenität eines Viruspools

1. EINLEITUNG

1.1. Die Virusgenese des Diabetes mellitus bei Mäusen

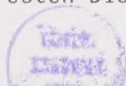
Aufgrund der klinischen Symptomatik und der pathologisch-anatomischen (119) Befunde am Pankreas kann der durch das Encephalomyocarditis (EMC) Virus induzierte Diabetes mellitus der Maus (29, 56, 103) als Modell des juvenilen Diabetes mellitus des Menschen (157, 10, 153, 90) angesehen werden.

Bei diesem Modell bewirkt die sogenannte M-Variante des EMC Virus eine isolierte Schädigung der B-Zellen innerhalb der Langerhansschen Inseln (22, 36, 37, 39, 58, 75, 123, 127). Bei verschiedenen Arbeiten zeigte sich, daß männliche DBA₂ Mäuse die Infektion praktisch zu 100 % überlebten und zu 70 bis 80 % diabetisch wurden (35, 117, 142).

1.2. Zur Problematik der Manifestationshäufigkeit des exp. Diabetes

Allerdings zeigte sich - offenbar in Abhängigkeit von der Zeit der Lagerung - an verschiedenen Orten eine Veränderung des Viruspools (71, 97, 125).

Erkennbar war dies an einer Abnahme der B-Zellschädigung bei den infizierten Tieren und an einer verminderten Anzahl von geschädigten Inseln. Das wiederum führte zu einer stark schwankenden Anzahl diabetischer Tiere bis hin zu nur noch sporadischem Auftreten eines manifesten Diabetes mellitus.



Bis heute ist die Frage offen, ob das nach der Infektion mit der M-Variante des EMC-Virus bei bestimmten Mäusestämmen geschlechtsabhängig auftretende Diabetessyndrom ausschließlich durch eine direkte Virus-Zellinteraktion oder durch einen nach Viruskontakt anlaufenden autoimmunologischen Prozeß verursacht wird (78, 84, 86, 110, 140). Für Untersuchungen dieser Frage und auch für andere Verwendungen dieses Diabetes-Modells ist eine weitgehende Vorhersagbarkeit der Infektionsfolgen von großer Wichtigkeit.

1.3. Problemstellung

Von der Beobachtung ausgehend, daß die Veränderung der Pathogenität in erster Linie auf eine Veränderung des Viruspools (9, 93, 158) bei längerer Lagerung zurückzuführen war, sollte wieder das Virus mit den beschriebenen diabetogenen Eigenschaften zur Verwendung kommen.

Der für Picorna-Viren bekannte Zerfall (150, 59) in eine noch virulente D-Komponente und eine nicht mehr infektiöse C-Komponente, die aber durch das im wesentlichen unveränderte Capsid die Voraussetzung für eine Antikörperbildung bietet, würde erklären, daß auch die nicht diabetisch gewordenen Tiere serologisch positiv waren (50).

Das Ziel der Untersuchungen war also, die nicht infektiöse Komponente von der infektiösen zu trennen und eine infektiöse Komponente in ausreichender Konzentration zu gewinnen, die das gewünschte Krankheitsbild in einem definierten und kontrollierten Ausmaß bei den Versuchstieren hervorruft. Gleichzeitig waren Aufschlüsse über die genetische Reinheit des als M-Variante bezeichneten Viruspools zu erwarten.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1. Virus

2.1.1. Virusstamm,

Die myocardiotope (M-)Variante des Encephalomyocarditis (EMC)-Virus entnehmen wir dem Pool, der von MÜNTEFERING seit 1971 verwendet und portioniert bei -70°C gelagert worden war (37, 127).

Die Gruppe der EMC-Viren gehört zur Familie der Picornaviren, die neben dem Encephalomyocarditis-Virus auch das ME-Virus und die Mengoviren einschließt (83, 112, 114).

2.1.2. Virusaufbereitung *

Das Virus wurde auf HeLa Zellkulturen vermehrt. Das vom Zelldetritus befreite Antigen (10 Min. 2000 g) (139) wurde in der Beckman Ultrazentrifuge, Modell L2 65B, 200-300fach konzentriert. Die Extraktion des Sedimentes erfolgte mit 0,02M Phosphatpuffer pH 7,2 + 0,9 % NaCl. Die Antigenkomponenten wurden im CsCl Gradienten bei 4°C im Rotor SW 65L (20 Stunden, 50 000 rpm) nach Zusatz von 0,7 ml Antigen zu 4,3 ml einer 3M wäßrigen CsCl Lösung getrennt (54). Die Dichte wurde auf $1,322\text{ g/cm}^3$ eingestellt.

* Für die umfangreichen virologischen Arbeiten, die am Institut für medizinische Mikrobiologie und Virologie der Universität Düsseldorf durchgeführt wurden, gilt Herrn Prof. Dr. Schmidt und Mitarbeitern mein besonderer Dank.

Die entsprechenden Fraktionen wurden mit dem Beckman Fraktionierungssystem entnommen. Ihre Dichte konnte anhand von Eichkurven nach Ermittlung des Brechungsindex bei 22° C mit dem Zeiss-Abbé-Refraktometer bestimmt werden (149, 150).

Die Infektiosität der Fraktionen, die entsprechend ihrer Dichte die jeweils angereicherte C- bzw. D-Komponente enthielten, wurde nach REED und MÜNCH bestimmt (141).

Die Fraktion mit der angereicherten D-Komponente besaß eine Infektiosität von $10^{6,5}$ TCID₅₀ Einheiten / 0,25 ml.

2.1.3. Viruslagerung

Durch Kontrollen wurde überprüft, daß die Infektiosität sich durch eine Lagerung bei 4° C innerhalb einer Woche nicht veränderte. Bis zur Verimpfung des Virusmaterials vier Tage nach der letzten Bestimmung der Infektiosität wurde die Kühlung des Virus nicht unterbrochen, um eine Veränderung des Viruspools so minimal wie möglich zu halten.

2.1.4. Verwendete Virussuspensionen

Direkt vor der Verimpfung wurden unter Verwendung von Earlscher Lösung mit Zusatz von 2 % Kälberserum folgende Virusverdünnungen zubereitet:

$$(D_1) = 10^{5,5} \text{ TCID}_{50} \text{ Einheiten} / 0,25 \text{ ml d. Frakt. m. anger. D-Komp.}$$

$$(D_2) = 10^{4,5} \text{ TCID}_{50} \text{ Einheiten} / 0,25 \text{ ml d. Frakt. m. anger. D-Komp.}$$

$$(D_3) = 10^{3,5} \text{ TCID}_{50} \text{ Einheiten} / 0,25 \text{ ml d. Frakt. m. anger. D-Komp.}$$

Im folgenden werden die Verdünnungen nur noch mit den Kennbuchstaben (D_1) bis (D_3) bzw. die mit ihnen infizierten Tiergruppen mit ihren Indizes 1 bis 3 benannt.

2.2. Tiere

2.2.1. Verwendeter Mäusestamm

Wie in früheren Versuchen, verwendeten wir männliche Mäuse des syngenischen Stammes DBA₂, die vom Züchter Gl. Bomholtgard aus Ry in Dänemark bezogen wurden (70). Sie waren zum Zeitpunkt der Infektion 23 Wochen alt.

2.2.2. Haltung und Pflege *

Die ursprünglich spezifiziert pathogenfrei aufgewachsenen Tiere wurden konventionalisiert. Sie wurden in Plastikkäfigen auf Streu in Gruppen zu maximal 7 Tieren gehalten, nachdem sie zuvor mit zufällig gezogenen Ohrmarken von 001 bis 210 numeriert worden waren. Bei 25⁰ C Raumtemperatur und 58 % rel. Luftfeuchtigkeit stand ihnen Leitungswasser und pathogenfreies Fertigfutter der Fa. Hoeveler ad libitum zur Verfügung (108). Die einzelnen Versuchsgruppen wurden räumlich getrennt aufgestellt.

* Der Fa. Hoechst danke ich für die Überlassung der Versuchsräume und Tierställe.

2.3. Klinisch chemische Untersuchungen

2.3.1. Blutglucose

Für die Bestimmung des Blutzuckers entnahmen wir Blut aus dem Infraorbitalsinus. Die Werte wurden sofort nach Entnahme mit einer quantitativen Teststreifenmethode, dem Reflotest System der Fa. Boehringer, ermittelt (44, 88, 156, 162).

2.3.2. Antikörperbestimmung

Das von den getöteten Tieren gewonnene Blut wurde sofort zentrifugiert, das Serum abpipettiert und bei -70°C schockgefroren. Hieraus wurde der Antikörpertiter bestimmt (38).

2.3.3. Uringlucose

Die Kontrolle der Glucose im Urin erfolgte qualitativ mittels Teststreifen an einem meist spontan abgegangenen Urintropfen. Eingesetzt wurden Teststreifen der Marke Glucotest (Fa. Boehringer).

2.4. Histologische Untersuchungen

2.4.1. Aufbereitung der Pankreata

Für die histologische Untersuchung wurden die Pankreata unmittelbar nach Tötung entnommen. Nachdem durch Längsschnitte einige sehr kleine Stücke besonders vom milznahen Schwanzende mit nicht mehr als 1 mm Durchmesser abgetrennt

waren, wurde das Pankreas in Bouinscher Lösung 48 Stunden fixiert. Anschließend wurden die Präparate in Paraffin eingebettet und die angefertigten Schnitte mit Hämatoxin und Eosin gefärbt.

Die abgetrennten kleinen Stücke wurden sofort nach Entnahme zwei Stunden in 2,5 %igem Glutaraldehyd fixiert und anschließend für eventuelle Elektronenmikroskopie und Spezialfärbungen in gekühltem Saccharosephosphatpuffer gewaschen und aufbewahrt.

2.4.2. Aufbereitung der übrigen Organe

Die übrigen Organe und die Kadaver wurden nach der Entnahme der Pankreata in 4 %igem neutralen Formalin fixiert und asserviert. Bei mindestens zwei Tieren aus jeder Gruppe täglich wurden Darm (Colon und Jejunum), Drüsen und Fettgewebe (Omentum majus), Gehirn (Sagittalschnitt Cortex bis Medulla), Haut (periumbilikal entnommen), Leber, Glandula vesicularis, Hoden, Lunge, Milz, Myocard, Niere, Speicheldrüsen, Thymus, Rückenmark (einschließlich Skelettanteil) und quergestreifte Muskulatur (Quadrizeps Femoris und Rectus Abdominis) in Paraffin eingebettet und nach Färbung mit Hämatoxin und Eosin untersucht.

2.5. Versuchsplannung

2.5.1. Versuchsgruppen

Die zuvor nummerierten Mäuse mit den Nummern 001 bis 063 wurden zur Gruppe (1), die Mäuse 064 bis 126 zur Gruppe (2), die Mäuse 127 bis 189 zur Gruppe (3) und die Mäuse 190 bis 210 zur Kontrollgruppe zusammengefaßt.

2.5.2. Infektion

Jedes Tier erhielt 0,5 ml der entsprechenden Lösung intraperitoneal injiziert. Gruppe (1) erhielt Lösung (D_1), Gruppe (2) Lösung (D_2), Gruppe (3) Lösung (D_3), und die Kontrollgruppe erhielt nur das zur Verdünnung verwendete Earlsche Medium. Die Infektion aller Tiere erfolgte am Tage 0 zwischen 8.00 Uhr morgens und 12.00 Uhr mittags.

2.5.3. Ablauf und Datenerhebung

Nachdem am Tag vor der Infektion bei jedem Tier Blutzucker, Gewicht und Urinzucker bestimmt worden waren, richtete sich der weitere Versuchsverlauf nach folgenden Grundsätzen: Bei einem Teil der Tiere jeder Gruppe sollte weiterhin in zweitägigem Wechsel ab 14.00 Uhr Blutzucker, Gewicht und Urinzucker bestimmt werden. Bei den restlichen Tieren sollte kontinuierlich Gewicht und Urinzucker überwacht werden. Täglich sollten mindestens zwei, schwerpunktmäßig am 3. bis 8. und am 23. bis 28. Tag, bis zu sechs Tieren unter Bestimmung der Laborwerte getötet und histologisch untersucht werden, da an diesen Tagen entsprechend den früheren Versuchen die Schwerpunkte im Krankheitsverlauf zu erwarten waren.

Alle gewonnenen Daten und Beobachtungen wurden auf standardisierten Formblättern (siehe Anlage 1 und 2) festgehalten.

Die genaue Planung des Versuchsprogramms geht aus der Tabelle in Abbildung 1 hervor.

Abbildung 1:

Schema zur Versuchsanordnung

Tag	Gruppen (1) - (3) jeweils				Kontrollgruppe		
	14 Tiere a1	14 Tiere a2	14 Tiere b1	21 Tiere b2	7 Tiere k1	7 Tiere k2	6 Tiere k3
01:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	w Uz
02:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	w UzBz	w Uz 1T
03:	wUzBz 1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	--	--
04:	--	wUzBz 1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz 1T	w Uz
05:	wUzBz 1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	wUz 1T
06:	--	wUzBz 1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz 1T	--
07:	wUzBz 1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz 1T	--	w Uz
08:	--	wUzBz 1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz	w Uz 1T
09:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	--
10:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	w Uz
11:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	wUz 1T
12:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--
13:	wUzBz	--	w Uz	1T	wUzBz	--	w Uz
14:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	w Uz
15:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	--
16:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	w Uz
17:	wUzBz	--	w Uz	1T	wUzBz1T	--	w Uz
18:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--
19:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	w Uz
20:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	w Uz 1T
21:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	--	--
22:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz	w Uz
23:	wUzBz1T	--	w Uz	1T	wUzBz	--	w Uz 1T
24:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	-----
25:	wUzBz1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	--	-----
26:	--	wUzBz1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	-----
27:	wUzBz1T	--	w Uz	1T	wUzBz1T	--	-----
28:	--	wUzBz1T	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	-----
29:	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	--	-----
30:	--	wUzBz	--	w Uz 1T	--	wUzBz1T	-----
31:	8T	9T	3T	2T	1T	--	-----

Legende:

- w: alle Tiere dieser Untergruppe werden gewogen.
 - Uz: bei allen Tieren dieser Untergruppe wird der Urinzucker kontrolliert.
 - Bz: bei allen Tieren dieser Untergruppe wird der Blutzucker bestimmt.
 - t: (mit Zahl) aus dieser Untergruppe wird eine der Zahl entsprechende Anzahl von Tieren zufällig bestimmt.
- Diese Tiere werden folgendermaßen untersucht:
w, Uz, Bz, töten in Narkose, entbluten für Serumgewinnung (Antikörperbestimmung), Entnahme des Pankreas zur speziellen Fixation und Fixation der übrigen Organe in Formalin.

3. ERGEBNISSE

3.1. Verlauf des Versuchs

3.1.1. Allgemeinzustand der Tiere im Experiment

Bis zum 3. Tag nach der Infektion konnte der Versuchsplan ohne Einschränkung eingehalten werden. An den ersten beiden Tagen zeigten die Mäuse keine Auffälligkeiten. Um 14.00 Uhr am 3. Tag waren alle infizierten Tiere auffällig ruhig, hatten ein leicht struppiges Fell und erschienen krank. Mit Ausnahme der Kontrollgruppe hatten sich diese Zeichen bei allen Gruppen gleichzeitig eingestellt und verstärkten sich bis 17.00 Uhr weiter.

Um 14.00 Uhr am 4. Tag war die Erkrankung deutlich stärker geworden, und die Tiere aller drei infizierten Gruppen zeigten Zeichen einer Encephalitis bzw. Myelitis mit Nachziehen der Hinterläufe, pathologischem Reflexverhalten und struppigem Fell. Nachdem die planmäßigen Arbeiten beendet waren, mußten am gleichen Abend aus allen infizierten Gruppen wegen des drohenden Verlustes einige inzwischen moribund gewordenen Tiere vorzeitig getötet werden.

Am 5. Tag hatte sich das Krankheitsbild noch weiter verschlechtert. Bereits um 14.00 Uhr war eine größere Anzahl der Tiere moribund, so daß die geplanten Untersuchungen nur noch teilweise möglich waren. Nachdem das jetzt reduzierte Versuchsprogramm durchgeführt war, fanden sich nur drei Stunden später weitere moribund gewordenen Tiere, die vorzeitig getötet werden mußten.

Bis zum 9. Tag wurden die übrigen Mäuse ebenfalls moribund. Nur eine Maus überlebte trotz schwerer Erkrankungs-

Abbildung 2:

Der Versuchsvorlauf im einzelnen

Zeit	Gruppe (1)				Gruppe (2)				Gruppe (3)				Kontrollgruppe		
	a.Nr. 001-028 Gebüts Tiere	b.Nr. 029-063 Gebüts Tiere	Summe	Summe	a.Nr. 064-091 Gebüts Tiere	b.Nr. 092-126 Gebüts Tiere	Summe	Summe	a.Nr. 127-154 Gebüts Tiere	b.Nr. 155-189 Gebüts Tiere	Summe	Summe	a.Nr. 190-210 Gebüts Tiere	Summe	
1. Tag	0,061	0,061	1	1	0,127	0,127	1	1	0,185	0,185	1	1	0,01	0,01	
2. Tag	0,061	0,061	1	1	0,122	0,122	1	1	0,155m, 187	0,155m, 187	2	2	0,01	0,01	
3. Tag	0,058, 054	0,058, 054	2	2	0,077m	0,120, 124	2	2	1, 2, 129	1	0	1	0,05	0,05	
4. Tag	0,01m, 002m, 004m, 005m, 007m, 008m, 019m, 011m, 017m, 018m, 019m, 020	0,03m, 023m, 036m, 037m, 041m, 042m, 045m, 047m, 048m, 052m, 053m, 056m, 057m, 058m, 059m, 060m, 061m, 062m, 063m, 064m, 065m, 066m, 067m, 068m, 069m, 070m, 071m, 072m, 073m, 074m, 075m, 076m, 077m, 078m, 079m, 080m, 081m, 082m, 083m, 084m, 085m, 086m, 087m, 088m, 089m, 090m, 091m, 092m, 093m, 094m, 095m, 096m, 097m, 098m, 099m, 100m, 101m, 102m, 104m, 106m, 107m, 108m, 109m, 110m, 111m, 112m, 113m, 114m, 115m, 116m, 117m, 118m, 119m, 120m, 121m, 122m, 123m, 124m, 125m, 126m, 127m, 128m, 129m, 130m, 131m, 132m, 133m, 134m, 135m, 136m, 137m, 138m, 139m, 140m, 141m, 142m, 143m, 144m, 145m, 146m, 147m, 148m, 149m, 150m, 151m, 152m, 153m, 154m, 155m, 156m, 166m, 167m, 169m, 172m, 173m, 176m, 180m, 186m, 184m	0,069m, 071m, 072m, 073m, 076m, 078m, 081m, 083m, 087m, 092m, 093m, 094m, 095m, 096m, 097m, 100m, 101m, 102m, 104m, 106m, 107m, 108m, 109m, 110m, 111m, 112m, 113m, 114m, 115m, 116m, 117m, 118m, 119m, 120m, 121m, 122m, 123m, 124m, 125m, 126m, 127m, 128m, 129m, 130m, 131m, 132m, 133m, 134m, 135m, 136m, 137m, 138m, 139m, 140m, 141m, 142m, 143m, 144m, 145m, 146m, 147m, 148m, 149m, 150m, 151m, 152m, 153m, 154m, 155m, 156m, 166m, 167m, 169m, 172m, 173m, 176m, 180m, 186m, 184m	1, 2, 129	1	0	1	210	10	17	2	1	1		
5. Tag	0,03m, 009m, 010m, 011m, 015m, 022m, 024m, 026m, 027m	0,029m, 023m, 035m, 039m, 042m, 044m, 050m, 051m, 052m, 054m	10	10	0,04m, 065m, 066m, 068m, 077m, 079m, 082m, 081m, 086m, 089m, 090m, 091m	0,02m, 093m, 094m, 095m, 096m, 097m, 100m, 101m, 102m, 104m, 106m, 107m, 108m, 109m, 110m, 111m, 112m, 113m, 114m, 115m, 116m, 117m, 118m, 119m, 120m, 121m, 122m, 123m, 124m, 125m, 126m, 127m, 128m, 129m, 130m, 131m, 132m, 133m, 134m, 135m, 136m, 137m, 138m, 139m, 140m, 141m, 142m, 143m, 144m, 145m, 146m, 147m, 148m, 149m, 150m, 151m, 152m, 153m, 154m, 155m, 156m, 166m, 167m, 169m, 172m, 173m, 176m, 180m, 186m, 184m	5	16	2	7	10	17	2	1	1
6. Tag	0,00m, 012, 016m	0,18m, 010m, 046	2	2	0,08m	0,15m	1	1	139, 142m	159m, 161m, 174m, 187m, 188m, 189m	6	8	2	0,01	
7. Tag	0	0,031, 044m	2	2	0,070m, 085m	0,08m, 117m	2	2	128m, 137m, 140m	160m, 168m, 170m	3	6	2	201	
8. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	156m, 171m	156m, 171m	2	2	1	1	
9. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	177m	177m	1	1	2	200	
10. Tag	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	0,01	
Bilanz:	28	35	63	20	28	35	63	20	28	35	63	20	28	6,9	

zeichen bis zum 12. Tag. Alle Kontrolltiere blieben gesund.

Der Verlauf des Versuchs ist in Abbildung 2 im Detail dokumentiert.

Zusammenfassend ließ sich erkennen, daß der Krankheitsverlauf der drei Versuchsgruppen nur unwesentlich voneinander abwich. Jedoch führte eine geringere Konzentration des Antigens zu einem etwas verzögerten Krankheitsverlauf, wie aus Abbildung 3 besonders deutlich wird. Hier ist ersichtlich, daß die Mehrzahl der Tiere aus Gruppe (1) bereits am 4. Tag moribund wurde. In Gruppe (2) mußten die meisten der Tiere am 5. Tag getötet werden, und in Gruppe (3) verteilte sich die Mehrzahl der moribunden Tiere auf den 5. und 6. Tag. Die bei allen Tieren gleichen klinischen Zeichen begannen in den drei Versuchsgruppen etwa gleichzeitig, nahmen dann aber einen unterschiedlich raschen Verlauf.

3.1.2. Gewichtsverläufe

Aus Abbildung 4a und b wird der Verlauf des durchschnittlichen Gewichtes der Mäuse deutlich. Die infizierten Mäuse zeigten eine stetige Gewichtsabnahme, besonders deutlich nach dem 3. Tag. Sie entspricht in etwa der Stärke des Krankheitsverlaufs. Parallel mit der Gewichtsabnahme ging eine deutliche Abnahme des Futterbedarfs. Vom 3. Tag an mußte praktisch kein Futter mehr nachgefüllt werden. Die Gewichtsabnahme zeigte keine deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen.

Abbildung 3: Vergleichende Darstellung von beabsichtigtem Bestand an Versuchstieren je Gruppe laut Versuchungsplan und frühzeitig reduziertem Tierbestand durch vorzeitig moribund gewordene Tiere (Angaben in Prozent der pro Versuchsgruppe eingesetzten Tiere).

 Sollbestand lt. Versuchsplan (gültig f. jede d. 3 Vers.gr.)
 Istbestand in Vers.gr. 1
 Istbestand in Vers.gr. 2
 Istbestand in Vers.gr. 3

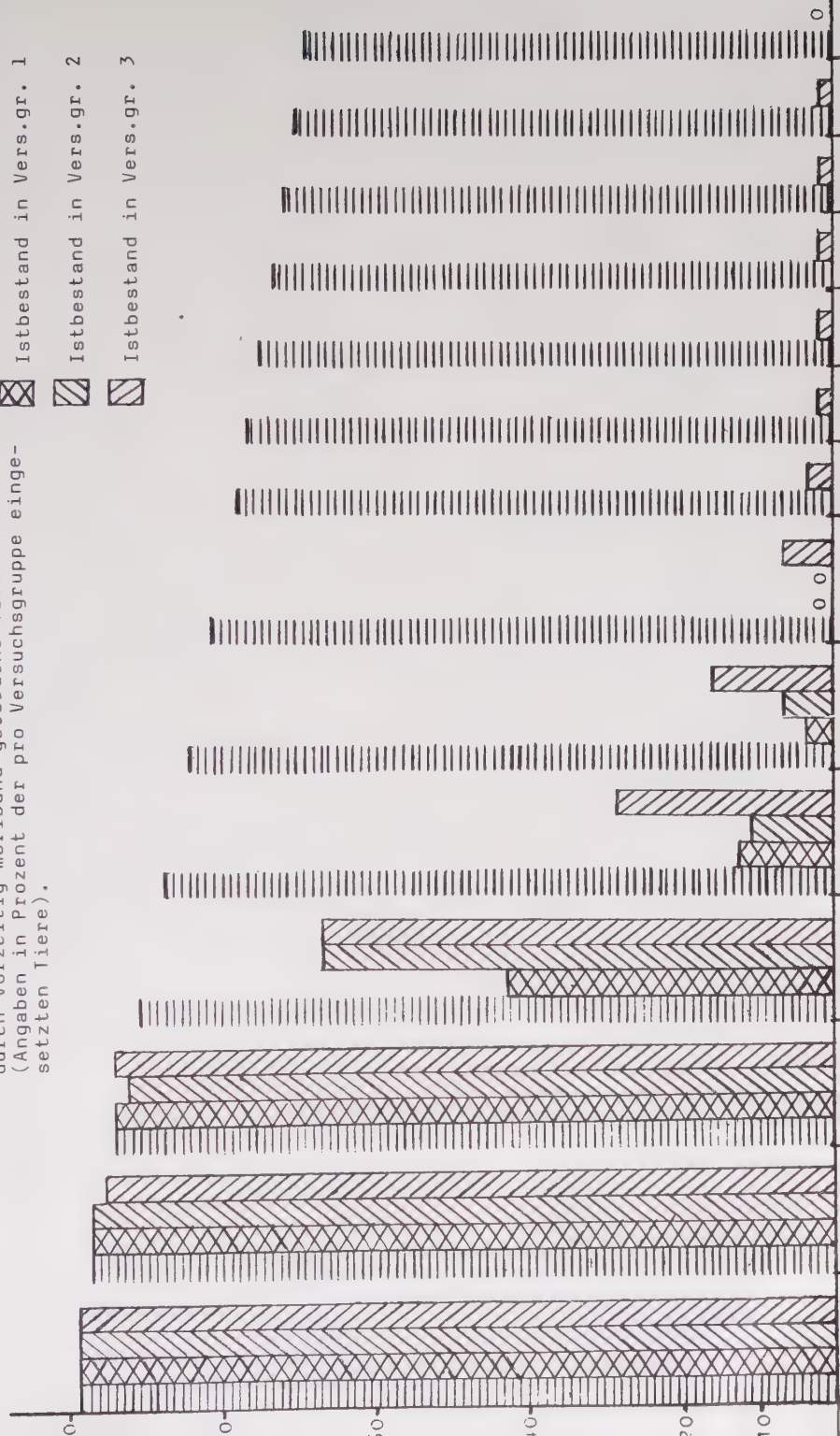


Abbildung 4a: Körpergewicht bei männlichen DBA₂ Mäusen im Verlauf der EMC-Virus-Infektion.

3 Versuchsgruppen nach Gabe verschiedener Virusmengen im Vergleich mit einer nicht infizierten Gruppe unter sonst gleichen Bedingungen.

Dargestellt sind die arithmetischen Mittel und jeweils der niedrigste und höchste Wert jeder Gruppe.

X konz. ①
O konz. ②
Δ konz. ③
+ kontr. Gr.

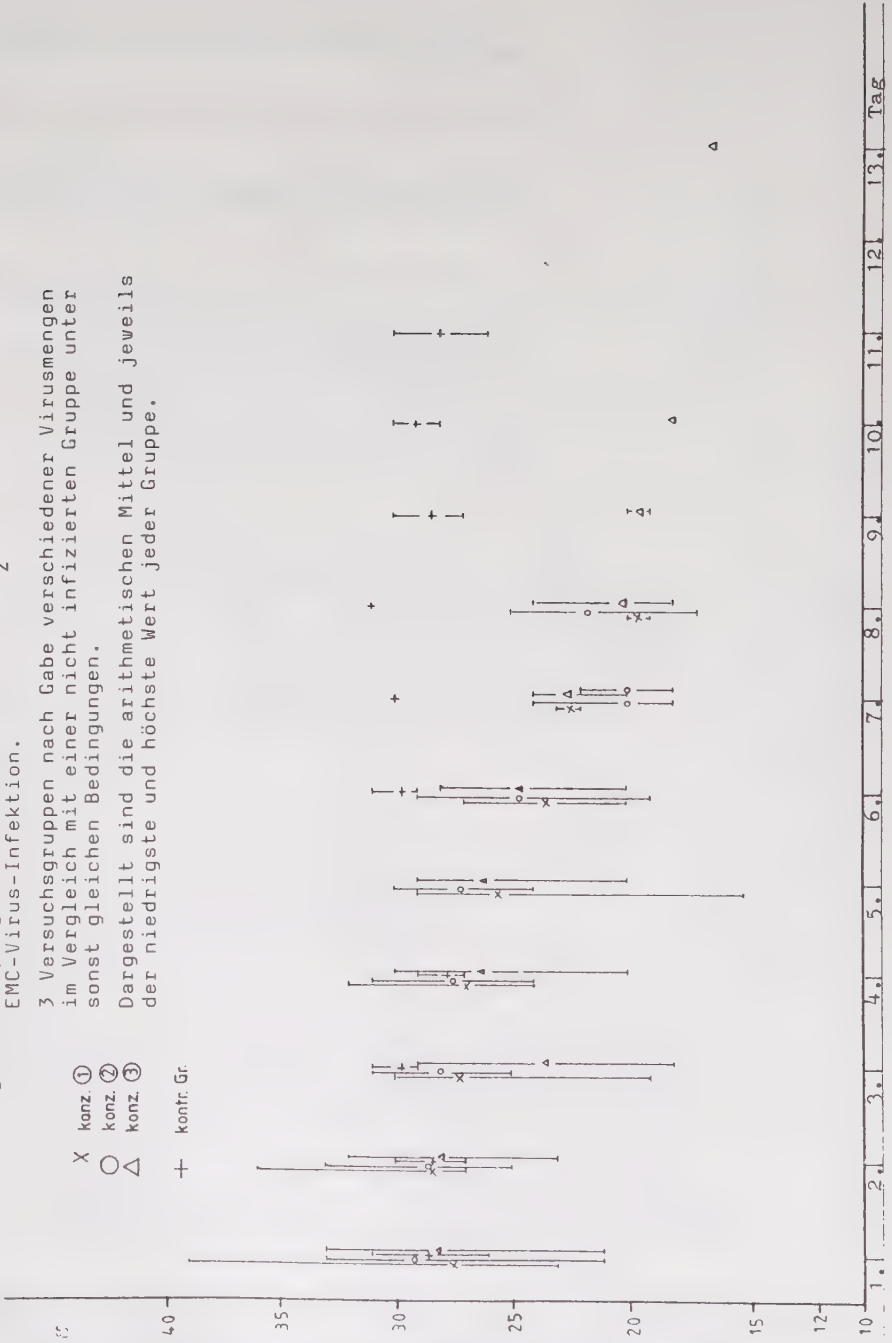


Abbildung 4b: Körpergewicht bei männlichen DBA₂ Mäusen im Verlauf der EMC-Virus-Infektion

- 3 Versuchsgruppen nach Gabe verschiedener Virusmengen
im Vergleich mit einer nicht infizierten Gruppe unter
sonst gleichen Bedingungen.
- Dargestellt ist der Gewichtsverlust anhand der arithmetischen
Mittel und der Standardabweichung der in den einzelnen Gruppen
gemessenen Werte; Einzelwerte sind eingeklammert.

- × konz. ①
● konz. ②
▲ konz. ③
+ kontr. Gr.

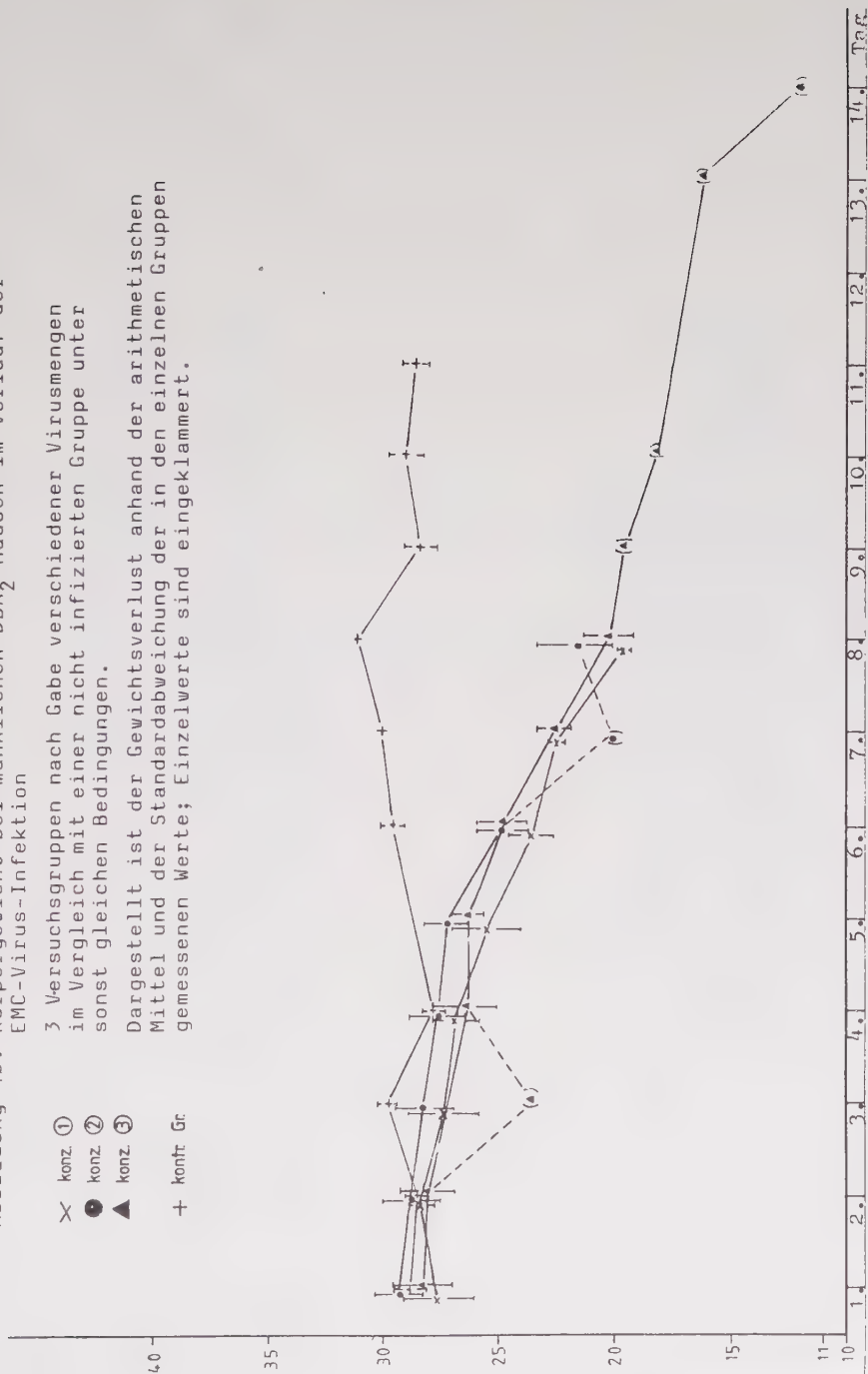


Abbildung 5a: Blutglucose bei männlichen DBA₂ Mäusen im Verlauf der EMC-Virus-Infektion

3 Versuchsgruppen nach Gabe verschiedener Virusbemengen im Vergleich mit einer nicht infizierten Gruppe unter sonst gleichen Bedingungen.

Dargestellt sind die arithmetischen Mittel und jeweils der niedrigste und höchste Wert jeder Gruppe.

Die gestrichelten Linien grenzen den Bereich physiologischer Werte ein.

- × konz ①
- konz ②
- △ konz ③
- + kontr. Gr

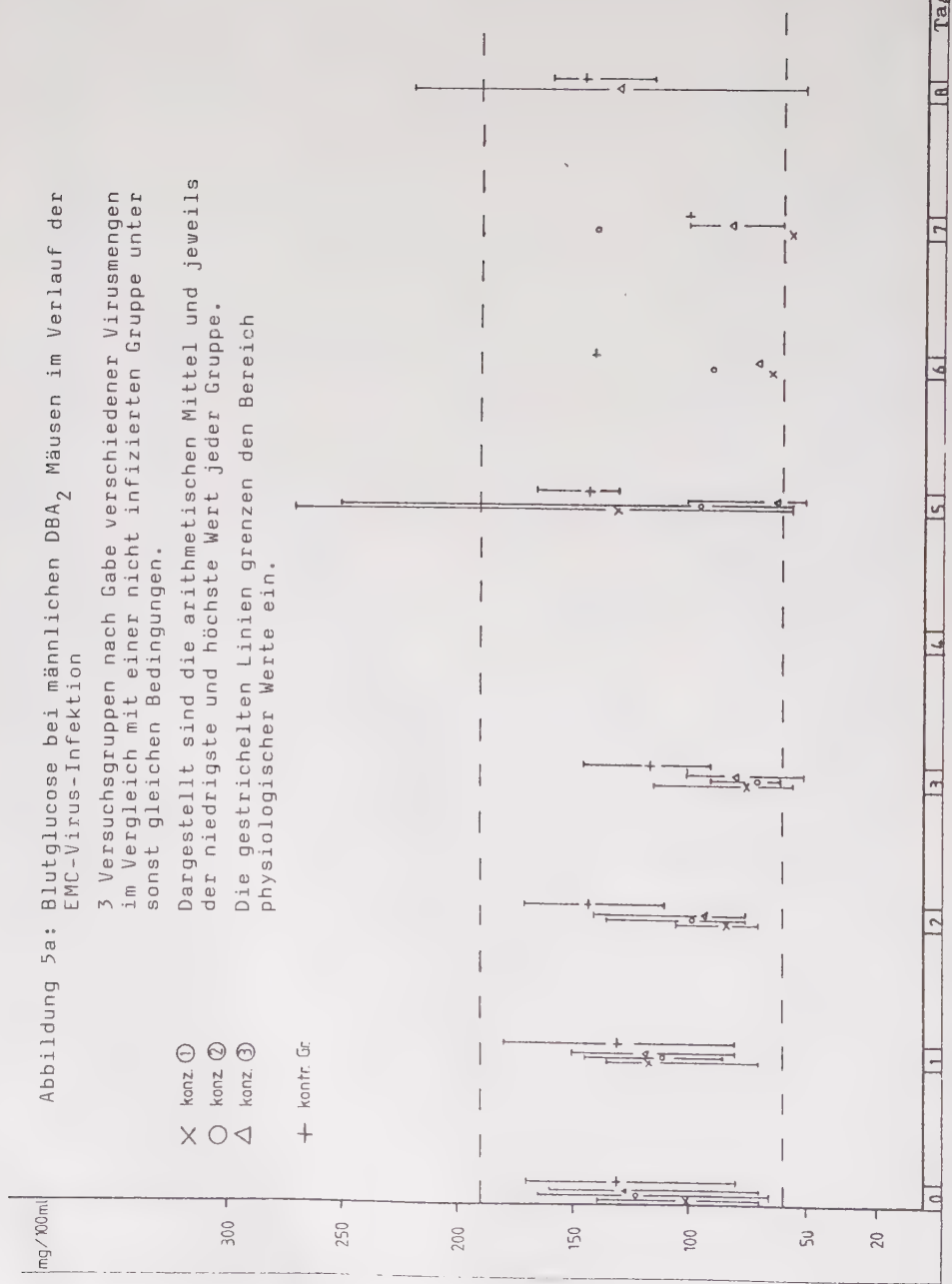
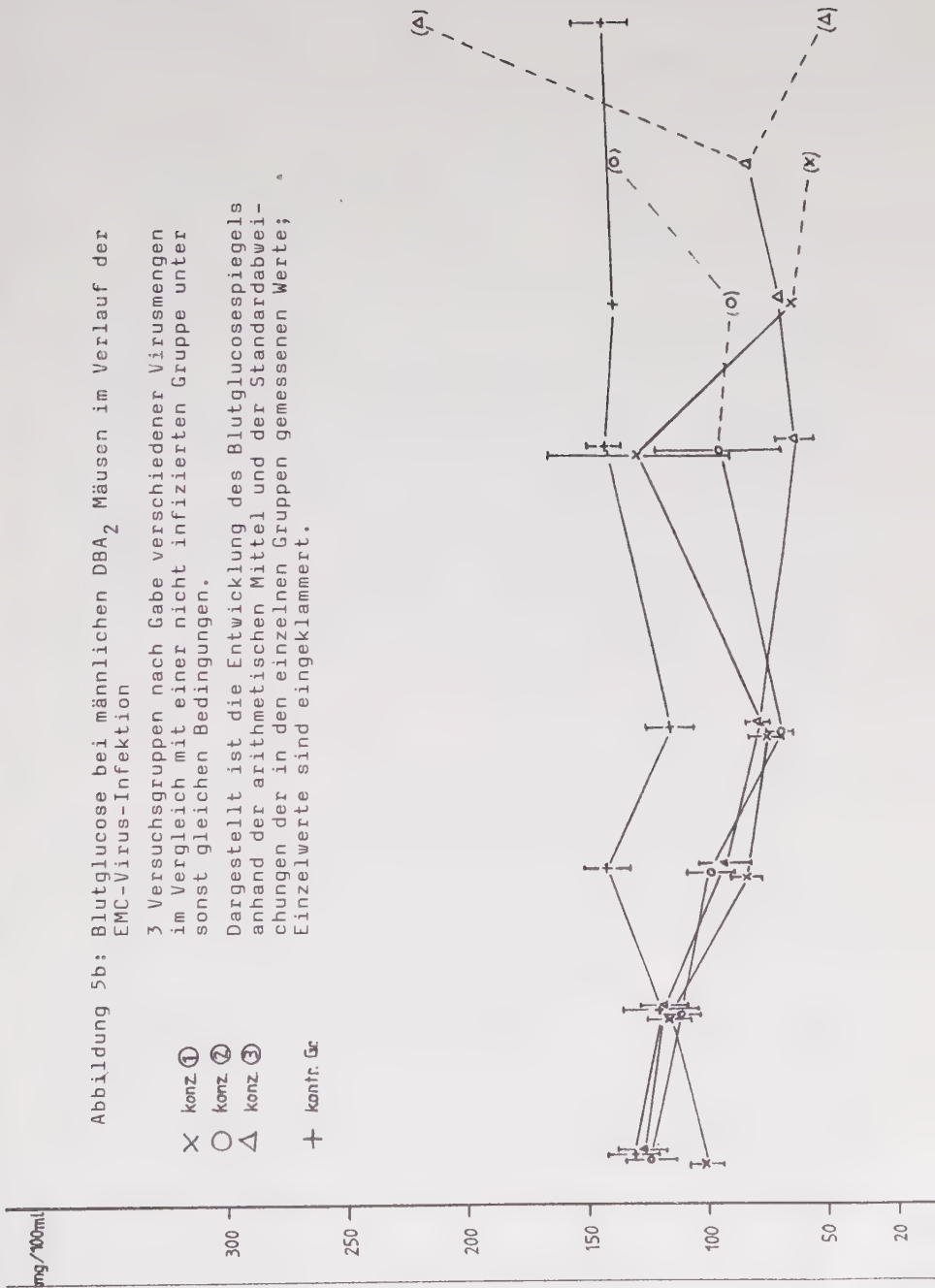


Abbildung 5b: Blutglucose bei männlichen DBA₂ Mäusen im Verlauf der EMC-Virus-Infektion

3 Versuchsgruppen nach Gabe verschiedener Virusmengen im Vergleich mit einer nicht infizierten Gruppe unter sonst gleichen Bedingungen.

Dargestellt ist die Entwicklung des Blutglucosespiegels anhand der arithmetischen Mittel und der Standardabweichungen der in den einzelnen Gruppen gemessenen Werte; Einzelwerte sind eingeklammert.

- X konz. ①
- konz. ②
- △ konz. ③
- + kontr. Gr.



3.1.3. Blutglucosespiegel

Die Abbildungen 5a und b zeigen die Entwicklung der durchschnittlichen Blutzuckerwerte. Bei allen infizierten Tieren fanden wir ein deutliches Absinken der Blutzuckerwerte schon am 2. Tag nach der Infektion, das sich am 3. Tag noch verstärkte. Vom 4. Tag an liegen, durch den schweren Verlauf der Infektion bedingt, keine verwertbaren Blutglucosewerte vor. Am 5. Tag schwankten die Werte sehr stark. Während einige Tiere noch stärker hypoglykämisch geworden waren, entwickelten vereinzelte eine diabetische Stoffwechsellage mit Blutglucosewerten bis maximal 300 mg/100 ml, bevor sie moribund wurden.

Diese Entwicklung zeigte sich insbesondere bei den Tieren, die bis zum 6. Tag oder länger überlebten. Ihre Blutglucosewerte waren entweder extrem niedrig oder rapide angestiegen. Statistisch relevante Zahlenwerte konnten allerdings nicht erhalten werden.

3.2. Histologische Befunde

3.2.1. Befunde am Pankreas

Nach den vorliegenden Befunden gehörte das Pankreas zu den Organen, die zuerst und besonders schwer geschädigt wurden.

Am 1. Tag post infektionem zeigte sich praktisch noch keine Veränderung gegenüber dem Zellbild der Kontrolltiere.

Schon am 2. Tag nach der Infektion (Bild 2) waren die Kerne der Inselzellen pyknotisch geworden.

Die Übersichtsaufnahme (Bild 4) zeigt, wie sich bis zum 5. Tag eine weitere Zerstörung der Pankreas vollzog:

Dichte Infiltrationen des gesamten Pankreas bestimmten jetzt das Bild. Exokrines und endokrines Gewebe zeigten pyknotische Zellkerne, Nekrosen und entzündliche Infiltrate aus Granulozyten und Makrophagen. Das Gewebsbild war zum Teil vollständig zerstört.

Dieser Vorgang der Schädigung des Pankreas war nicht von der verabreichten Infektionsdosis abhängig. Tiere mit gleicher Infektionsdosis zeigten am gleichen Tag eine sehr verschieden weit fortgeschrittene Zerstörung des Inselgewebes und des exokrinen Pankreasgewebes. Alle drei verwendeten Virussuspensionen führten zu qualitativ durchaus vergleichbaren Veränderungen an den Inseln und am übrigen Pankreas. Diese waren jedoch in ihrer zeitlichen Entwicklung stark vom Individuum abhängig (Bild 3 bis 6). Das heißt, das Vollbild einer schweren Zerstörung von exokrinem und endokrinem Pankreas war in allen Dosisgruppen gleichermaßen bereits vom 4. Tag an zu beobachten. Die Pankreata einzelner Tiere zeigten dagegen bis zum 7. Tag trotz stärkster Infektionsdosis ein weitgehend intaktes Zellbild (Bild 3 und 5).

Allerdings entstammten die vier Tiere mit den längsten Überlebenszeiten (8, 9 und 14 Tage) ausschließlich der Gruppe 3, die die geringste Infektionsdosis erhalten hatte.

3.2.2. Befunde an den übrigen Organen

Im Gehirn (Bild 7) zeigten sich Schädigungen bei allen Gruppen erst vom 4. Tag an. Sie begannen mit einem leichten Ödem. Vom 5. Tag an fanden wir perivaskuläre Infiltrate, eine Erweiterung der Kapillaren und weiterhin ein leicht zunehmendes Ödem.

Erst später entwickelten sich stärkere Infiltrate, ausgehend von der Umgebung der Gefäße. Besonders deutlich wurden diese Zeichen bei den Tieren, die erst nach dem 6. Tag moribund geworden waren. In und um die Gefäßwände fanden wir zahlreiche polymorphkernige Granulozyten und vereinzelte Rundzellen, gleichzeitig nahm das Ausmaß der Nekrosen zu.

Das Herz wurde im Laufe der Infektion ebenfalls stark geschädigt. Schon vom dritten Tag an fanden wir Nekrosen der Muskelfasern (Bild 9). Diese waren bei den untersuchten Mäusen erst nach dem 5. Tag von einer ausgeprägten leukozytären Infiltration begleitet (Bild 8).

Das Ausmaß der Schäden, ausgedrückt durch zunächst einzelne degenerierte Myocardfasern, Nekrosen und schließlich eine Abraumreaktion durch Leukozyten und Makrophagen, zeigte bei allen drei verwendeten Virussuspensionen keine deutlichen Unterschiede.

An der Niere fanden wir außer disseminierten Einzelzellnekrosen, vorwiegend der proximalen Tubuli, keine Veränderungen. Diese Schäden waren bei allen moribunden Tieren unabhängig von der Krankheitsdauer und Infektionsdosis in etwa gleich stark. Wir haben diese Schäden als sekundäres Phänomen im Rahmen des terminalen Kreislaufversagens und nicht als virusspezifische Schäden gedeutet (Bild 10).

Auch die Leber zeigte ausschließlich sekundäre Veränderungen und keine virusinduzierten Schäden.

Die Lunge war bei allen Tieren unauffällig.

Die gestreifte Muskulatur - untersucht an der Bauchdecke und am rechten Quadrizeps femoris - zeigte Schäden ähnlich

wie der Herzmuskel, jedoch wesentlich geringer ausgeprägt und somit nur bei einigen Tieren leicht auffindbar.

Im Fettgewebe (Bild 11) - entnommen aus dem Bauchraum (Omentum Majus) - fanden wir besonders perivaskulär und im Bereich der Infektionsstelle zum Teil massive Infiltrate, bestehend aus Granulozyten, Makrophagen und Lymphozyten. Rückenmark - Querschnitt im Brustwirbelbereich - und Knochenmark - entnommen aus dem Humerus - waren bei allen Tieren ohne pathologische Auffälligkeiten (Bild 12). Ebenso ohne pathologische Veränderungen blieben folgende Organe: Darm (Colon und Jejunum), Haut, Glandula vesicularis, Hoden, Milz, Speicheldrüsen und Thymus.

4. DISKUSSION

Wie einleitend dargestellt, zeigte sich bei bestimmten Mäusestämmen nach der Infektion mit der M-Variante des EMC-Virus ein "Diabetes "Mellitus".

Frühere Arbeiten (36, 39, 123, 127, 121) haben gezeigt, daß die Tiere ein Syndrom entwickelten, das sowohl klinisch und klinisch-chemisch (157) (Blutglucose und Urin-glucose) als auch pathohistologisch (10, 119, 153) dem Diabetes mellitus Typ I beim Menschen entsprach.

Dieses Syndrom bei der Maus kann als ein vielseitig einsetzbares Diabetes-Modell dienen. Über den Pathomechanismus des Typ I Diabetes sowie über Therapien und Therapeutika verspricht dieses Modell vielfältige Erkenntnisse und Testwerte (29, 113, 128).

Leider zeigte sich bei der Verwendung des Virus unabhängig an verschiedenen Orten ein stark schwankender Anteil diabetischer Tiere (24, 125). In der Tendenz wurden relativ immer weniger Tiere diabetisch.

Weil die Anwendbarkeit des Diabetes Modells wegen der nicht vorhersagbaren Anzahl diabetischer Tiere immer schlechter wurde, war es unser Ziel, wieder ein definiert wirksames Virus zu gewinnen.

Die nach längerer Lagerung des Viruspools aufgetretenen Veränderungen sollten zunächst durch physikalische Methoden so weit wie möglich eliminiert werden, bevor eine wesentlich aufwendigere Auftrennung des Viruspools durch Plaque-reinigung begonnen wurde.

Wir erhielten eine wesentliche Wirkungssteigerung bei den infizierten Mäusen. Durch die physikalische Anreicherung der infektiösen D-Komponente in der Virussuspension ergab sich im Vergleich zu früheren Versuchen ein foudroyanter Infektionsverlauf.

Die histologischen Untersuchungen zeigten Schäden im wesentlichen an Herz und Pankreas. Die Schäden gleichen denen, die auch bei der Verimpfung der E-Variante (32, 124, 170) aufgetreten sind.

Das starke Absinken der Blutglucosewerte geht parallel mit der Schädigung der Inseln und des gesamten Pankreas (75). Die Werte sind offensichtlich durch eine erhöhte Insulinfreisetzung bei fortschreitender Zerstörung der Inseln, gleichzeitiger schlechter Nahrungsaufnahme und schlechtem Allgemeinzustand zu erklären (36).

Die Tatsache, daß bei einzelnen Tieren später die Glucosewerte rapide steigen, zeigt das völlige Erliegen der Insulinproduktion.

Allerdings werden die diabetogenen Effekte der Infektion durch die schwere Schädigung des exokrinen Pankreas und des gesamten Organismus überlagert und sind als "Diabetes-Modell" so nicht mehr brauchbar.

Die Versuche haben also gezeigt, daß eine Wiedergewinnung des als M-Variante bezeichneten Viruspoools durch Vermehrung auf HeLa Zellkulturen und physikalische Methoden der Reinigung und Konzentration nicht zu erreichen ist. Vielmehr hat die M-Variante ihre Eigenschaften weiter verloren und verändert, oder sie ist gegenüber anderen im Viruspool vorhandenen Komponenten völlig zurückgetreten.

Somit war die Grundlage gegeben, die umfangreiche Auftrennung des Viruspools auf biologischem Wege durch Plaquereinigung in Angriff zu nehmen. Dieser Weg wurde inzwischen durch Herrn Dr. KRUPPENBACHER am gleichen Institut beschritten und erfolgreich durchgeführt.

Aus dem alten, als M-Variante bezeichneten Viruspool konnten 40 Klone isoliert werden. Diese wurden anschließend auf ihre biologischen Eigenschaften getestet. Nur einer dieser Klone entspricht mit einer 100 %igen Diabetogenität der ehemaligen M-Variante (184).

Diese Ergebnisse wurden auch von YOON (182) bestätigt, der ein ähnliches Problem mit der ehemaligen M-Variante sah und durch Plaquereinigung ebenfalls einen diabetogenen Klon herausarbeiten konnte.

Dieser Weg der Auftrennung des EMC-Virus führt also zumindest zu einer diabetogenen Variante im bisher als M-Variante bezeichneten Viruspool.

Das Modell eines Diabetes mellitus Typ I bei Mäusen ist durch die Isolierung eines diabetogenen Klons nun wieder funktionsfähig.

Fraglich bleibt zunächst, ob es sich wirklich nur um einen diabetogenen Klon gehandelt hat, der die diabetogenen Eigenschaften der M-Variante bewirkte, oder ob im Virusmaterial noch weitere diabetogene Varianten des EMC-Virus enthalten

waren, die bei der Auftrennung nicht isoliert werden konnten, aber gleiche oder ähnliche Eigenschaften besitzen.

Es ist zudem offen, ob das gefundene diabetogene Virus langfristig stabil ist gegen physikalische Einflüsse und ob es seine Eigenschaften bei Adaptation an andere Zellkulturen behält (24, 165).

Da versucht wurde, möglichst viele Parameter bei den Versuchen konstant zu halten, ist wie bei Arbeiten mit der M-Variante (35, 117, 142, 178) insbesondere eine Abhängigkeit der diabetogenen Wirkung von Geschlecht, Alter und genetischen Eigenschaften der infizierten Mäuse zu erwarten (13, 14, 57).

Für die weitere Erforschung des Pathomechanismus des Diabetes mellitus Typ I ergeben sich im Zusammenhang mit dem Modell "virusinduzierter Diabetes" nach den oben beschriebenen Resultaten nun eine Reihe vielversprechender Fragestellungen.

Gibt es ein ausreichend stabiles Virus, das bei bestimmten Mäusestämmen sicher ein dem Diabetes mellitus Typ I beim Menschen entsprechendes Krankheitsbild hervorruft?

Lassen sich bestimmte genetische Eigenschaften bei den für das Virus empfindlichen Mäusestämmen (49) herausarbeiten?

Läßt sich die Entstehung eines Diabetes auch durch eine überschaubare Anzahl von Wechselwirkungen verschiedener Klone des EMC-Virus provozieren?

Wenn nur verschiedene Viren gemeinsam ein "Diabetes Syndrom" hervorrufen, steht dies im Zusammenhang mit der Empfindlichkeit genetisch verschiedener Mäusestämme (181) ?

Lassen sich durch Nutzung der selektionierenden Wirkung verschiedener Zellkulturen und Gewebe (18, 144, 145, 173) weitere diabetogene Klone gewinnen und isolieren?

5. ZUSAMMENFASSUNG

Eine Infektion bestimmter Mäusestämme mit der M-Variante des EMC-Virus führt zur Entwicklung eines Diabetes mellitus.

Von der Beobachtung ausgehend, daß die Diabetogenität des Viruspools nach längerer Lagerung nicht mehr voraussagbar war, sollten die ursprünglichen Eigenschaften des Virus zurückgewonnen und spezifiziert werden.

Die vorliegende Arbeit stellt eine der dazu durchgeführten Untersuchungsreihen dar. Es wurde überprüft, ob der regelmäßig auftretende Zerfall des Virus in eine infektiöse und eine nicht infektiöse Komponente verantwortlich war für das Nachlassen der Diabetogenität. Nach Vermehrung auf HeLa Zellkulturen, Konzentration und Reinigung auf physikalischem Wege rief das Virus jedoch bei einem Mäusestamm, der bisher nur einen Diabetes mellitus entwickelt hatte, ein weitaus ernsteres Krankheitsbild hervor:

90 % der Tiere starben bereits innerhalb der ersten Woche nach der Infektion. Ein Diabetes mellitus als einzige Folge der Infektion konnte sich bei keinem der Tiere entwickeln.

Im Gegensatz zum erwarteten schweren Diabetes mellitus starben die Tiere mit einer massiven Pankreatitis, die durch Zerstörung aller Pankreaszellen einschließlich der Inseln zunächst ein Absinken der Blutglucosewerte bewirkte. Die histologische Untersuchung zahlreicher Organe zeigte darüber hinaus insbesondere Schäden am Herz.

Bei allen Tieren fand sich eine Myokarditis mit Nekrosen einzelner Herzmuskelfasern und Infiltraten im gesamten Myocard, sowie in einigen Fällen zusätzlich die Zeichen einer Endocarditis.

Bei den Tieren, die länger als 4 Tage überlebten, fanden sich ebenfalls Zeichen einer Encephalitis mit massiven perivaskulären Infiltraten. Die Arbeiten dienten als Basisuntersuchung zur Erforschung des virusinduzierten Diabetes mellitus, der Gegenstand weiterführender Arbeiten war.

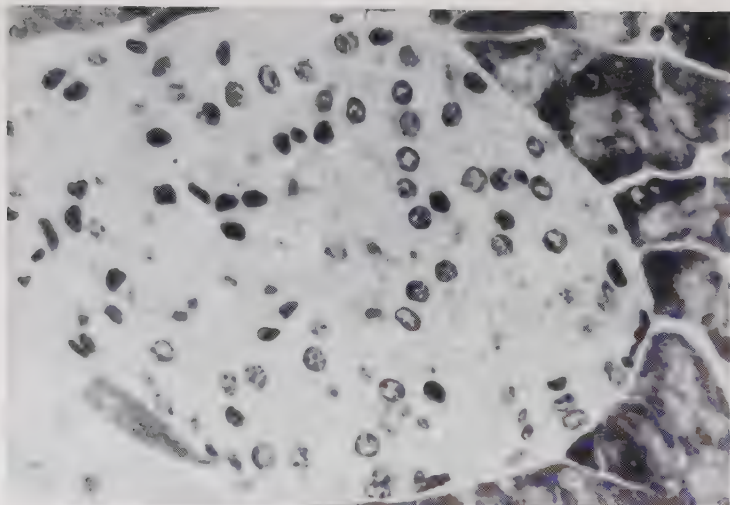


Bild 1: Maus Nr. 123, Gruppe 2, Präp. 1. Tag p.I.
färbung: H.E. Obj.: x40, Pankreas,
Befund: keine pathologischen Veränderungen.

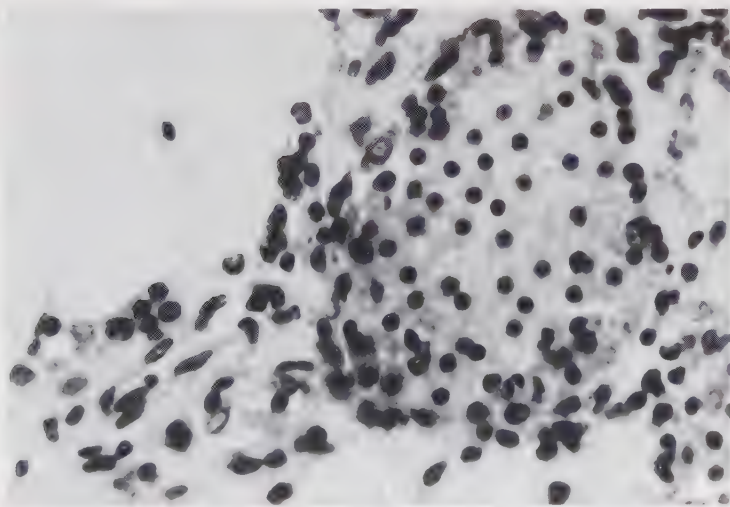


Bild 2: Maus Nr. 155, Gruppe 3, Präp. 2. Tag p.I.
färbung: H.F. Obj.: x40, Pankreas,
Befund: Pyknotische Kerne in den Inselzellen.

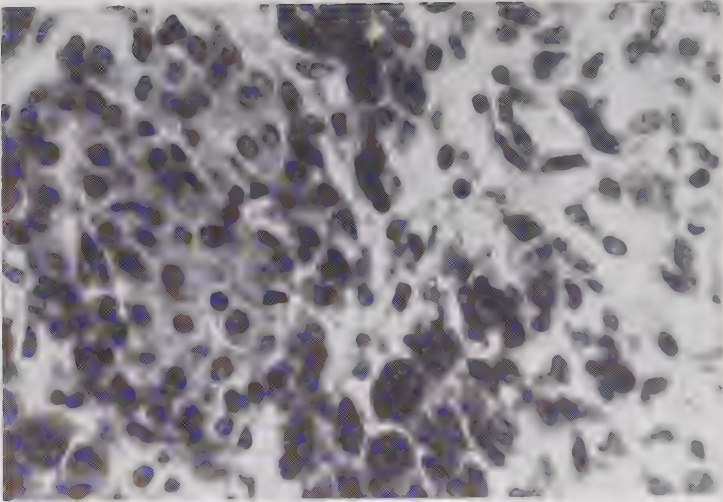


Bild 3: Maus Nr. 31, Gruppe 1, Präp. 7. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40, Pankreas.
Befund: Insel und umgebendes Pankreasgewebe
trotz später Infektionsphase mit Ausnahme einzelner
verdichteter Zellkerne ohne pathologische Auf-
falligkeiten.

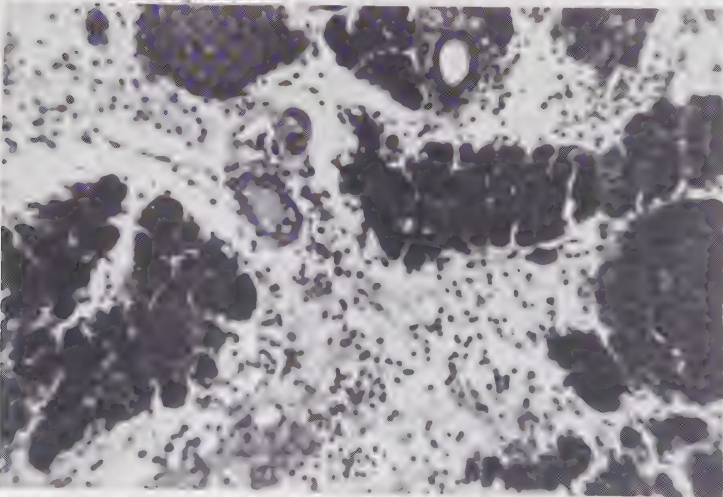


Bild 4: Maus Nr. 30, Gruppe 2, Präp. 5. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x10, Pankreas,
Befund: Die Übersichtsaufnahme zeigt pyknotische
Zellkerne, Nekrosen sowie Infiltrate aus Granulozyten
und Makrophagen.

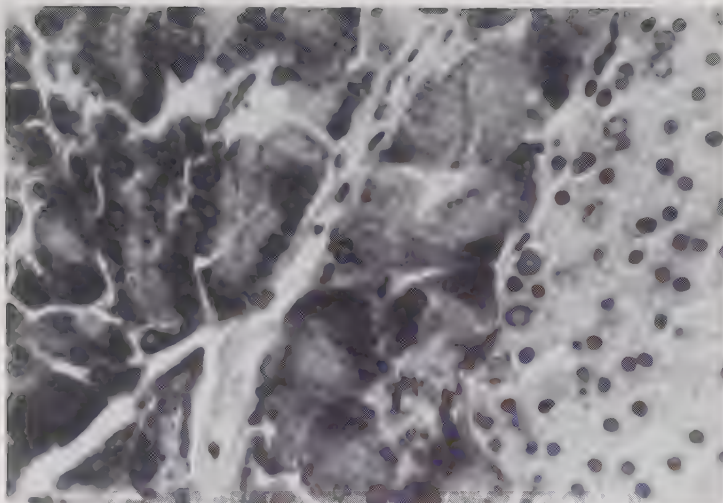


Bild 5: Maus Nr. 161, Gruppe 1, Präp. 6. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40, Pankreas.
Befund: Pyknotische Inselzellkerne und weit-
gehend intaktes exokrines Pankreas.

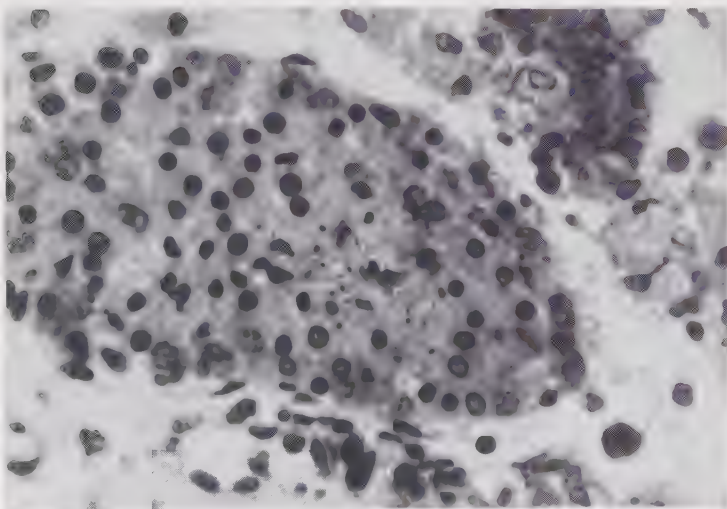


Bild 6: Maus Nr. 151, Gruppe 3, Präp. 5. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40, Pankreas,
Befund: Insel mit pyknotischen und zum Teil
zerfallenen Zellkernen, periinsulär vereinzelte
Infiltratzellen.

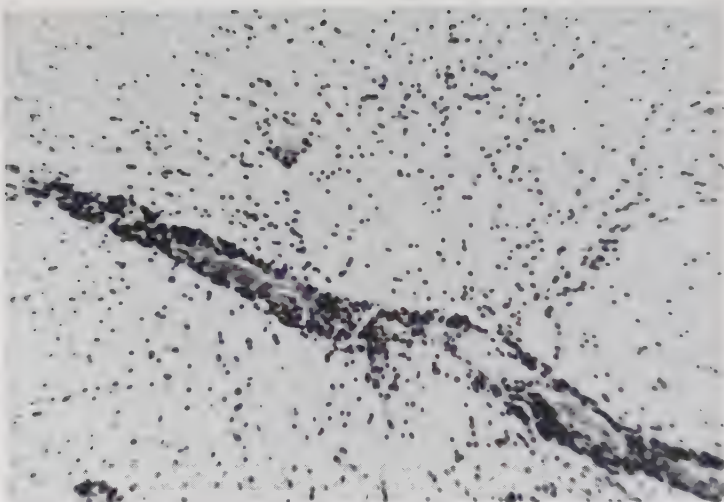


Bild 7: Maus Nr. 156, Gruppe 3, Präp. 8. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x10,
Gehirn (Großhirnrinde)
Befund: Die Übersicht zeigt, ausgehend von den
Gefäßen, massive rundzellige Infiltrate.

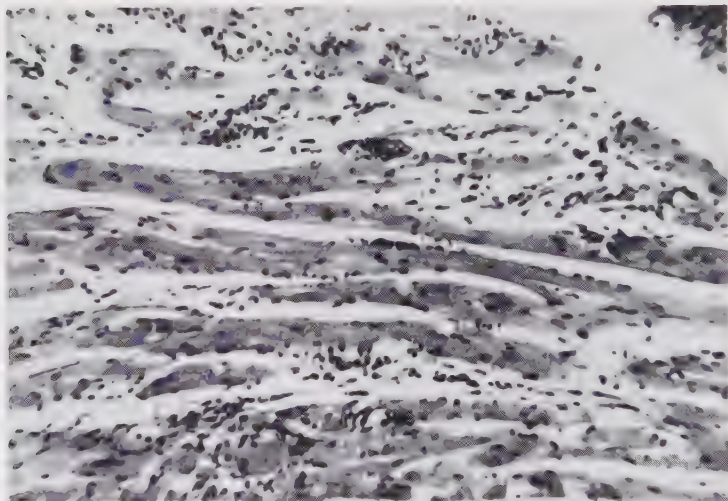


Bild 8: Maus Nr. 16, Gruppe 1, Präp. 6. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x10, Myokard.
Befund: Die Übersichtsaufnahme zeigt massive
rundzellige Infiltrate im gesamten
Herzmuskelgewebe.

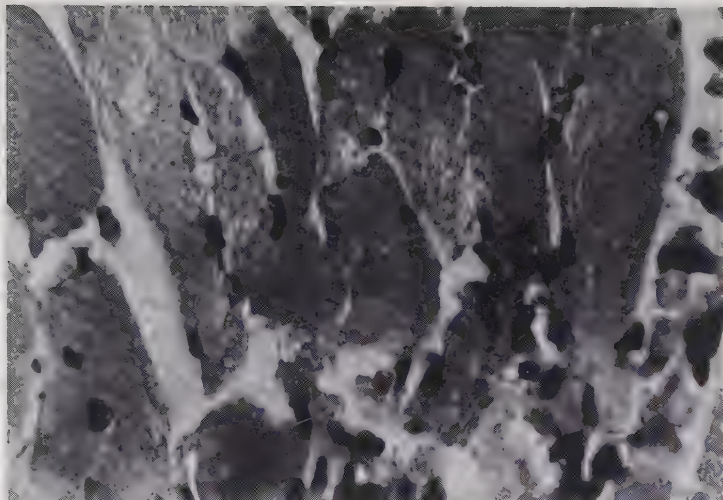


Bild 9: Maus Nr. 171, Gruppe 3, Präp. 8. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40, Myokard.
Befund: Nekrosen einzelner Herzmuskelfasern,
Infiltratzellen.

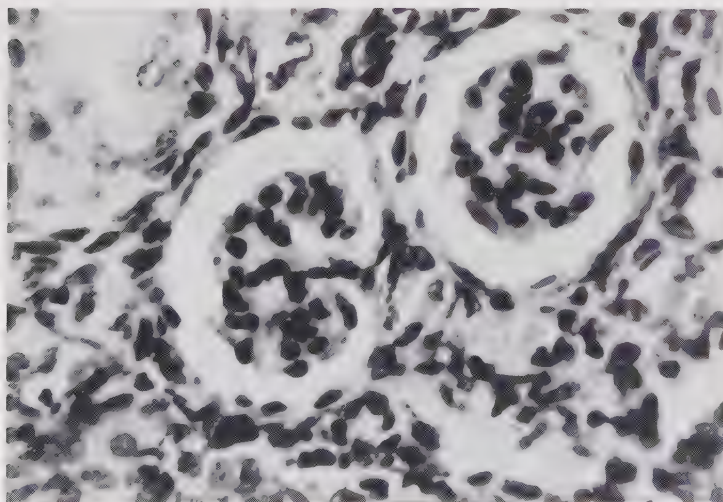


Bild 10: Maus Nr. 27, Gruppe 1, Präp. 5. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40, Niere.
Befund: Disseminierte Einzelzellnekrosen vorwiegend
der proximalen Tubuli mit entsprechenden Kernpyk-
nosen; Schrumpfung der Glomeruli.

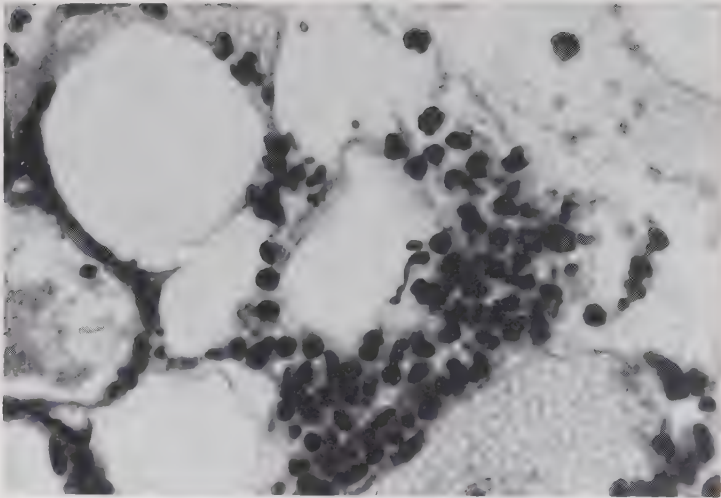


Bild 11: Maus Nr. 19, Gruppe 1, Prap. 4. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40.
Peritoneum aus der Nähe der Infektionsstelle.
Befund: starke Infiltration von Granulozyten und
Makrophagen sowie vereinzelte Lymphozyten.

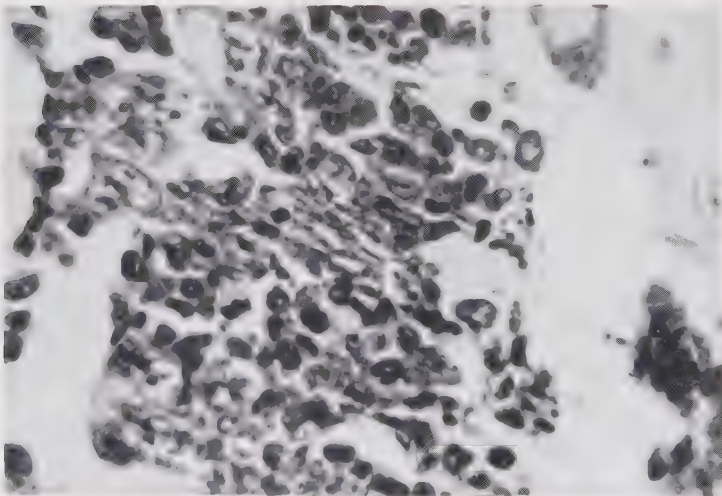


Bild 12: Maus Nr. 98, Gruppe 2, Prap. 4. Tag p.I.
Färbung: H.E. Obj.: x40. Knochenmark (Humerus).
Befund: keine pathologischen Auffälligkeiten.

7. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) ANDERSEN, O.O., CHRISTY, M., ARNUNG, K., BUSCHARD, K.,
CHRISTAU, B., KROMANN, H., NERUP, J., PLATZ, P.,
RYDER, L.P., SVERGAARD, A., THOMSEN, M.:
Viruses and Diabetes
Proceedings of the IX. Congress of the
International Diabetes Federation.
International Congress Series No. 413
(1977), S. 294-298
- (2) ANDERSSON, A., GUNNARSSON, R., HELLERSTRÖM, C.:
Long-Term Effects of a low extracellular
Glucose Concentration on Glucose Metabolism
and insulin Biosynthesis and release of Mouse
Pancreatic islets maintained in Tissue Culture.
Acta Endocr. 82 (1976), S. 318-329
- (3) ANFT, H.W., IRMSCHER, K.:
Quantitative Schnellbestimmung der Glucose
im Blut und Serum.
Diagnostik 9 (1976), S. 10-13
- (4) BACHMANN, P.A.:
Die Verwendung von Zellkulturen bei der Er-
forschung menschen- und tierpathogener
Virusarten.
Tierärztl. Fak. München (1970)
Gustav Fischer Verlag Jena (1974)
- (5) BALAY, L.V.:
Über die Regeneration der Langerhansschen
Inseln.
Virchows Arch. path. Anat. 310 (1943),
S. 291-303
- (6) BAUM, J.D., AYNLEY-GREEN, A., MCCALLUM, F.O.:
Coxsackie Viruses and Diabetes Mellitus.
Brit. Med. J. 7 (1974) 3, S. 172

- (7) BIELING, R., KOCH, F.:
Über die Bedeutung des Columbia S.K.-Virus
in der humanen Pathologie.
Dtsch. med. Wschr. 81 (1956), S. 294-298
- (8) BISCHHOFF, K.:
Untersuchungen zur Immunogenität von
Langerhansschen Inselzellen und Hautgewebe
bei stark histoinkompatiblen Inzuchtratten.
Univ. Heidelberg, Diss. 1979
- (9) BOESCHE, P., DREES, O.:
Zur Kochsalzempfindlichkeit des Encephalo-
myocarditis-Virus.
Naturwissenschaften 44 (1957), S. 544-545
- (10) BORCHARD, F., MÜNTEFERING, H.:
Beitrag zur quantitativen Morphologie der
Langerhansschen Inseln bei Früh- und Neu-
geborenen.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 346 (1969)
S. 178-198
- (11) BOUCHER, D.W., NOTKINS, A.L.:
Virus induced Diabetes Mellitus
I. Hyperglycemia and Hypoinsulinemia
in Mice Infected with Encephalomyocarditis
Virus.
The J. of exper. med. 137 (1973), S. 1226-1239
- (14) BOUCHER, D.W., HAYASHI, K., ROSENTHAL, J., NOTKINS, A.L.:
Virus-Induced Diabetes Mellitus.
III. Influence of the Sex and Strain
of the Host.
J. of Inf. Dis. 131 (1975), S. 462-466
- (15) BRADE, H., KLEIN, M., SCHMIDT, W.A.K.:
Die Bildung und Persistenz latexagglutinations-
hemmender IgG- und IgM-Antikörper im Kaninchen
nach Applikation von Poliomyelitis-, Coxsackie-
und Encephalomyocarditisviren.
Zbl. Bakt. Hyg., I.Abt. Orig.A. 233 (1975),
S. 139-146

- (16) BRAUNSTEINER, H., HANSEN, W., JUNG, A., SAILER, S.:
Latent diabetische Stoffwechsellaage bei
Eltern juveniler Diabetiker.
Dtsch. med. Wschr. 91/16 (1966), S. 750-753
- (17) BÜRGI, W., KOLLER, P.U., VOLLMAR, J., VOGEL, P.:
Erfahrungen mit Reflomat zur Glucosebe-
stimmung und Einfluß von Glykolysehemmern
auf Reflotest-Glucose.
Dtsch.med.Wschr. 103 (1978), 2036-2039
- (18) BURCH, G.E., TSUI, C.Y., HARB, J.M.:
The early Renal Lesions of Mice infected
with Encephalomyocarditis Virus.
Lab Invest. 26 (1972), S. 163-172
- (19) BURCH, G.E., TSUI, C.Y., HARB, J.M.:
Pancreatic Islet Cell Damage in Mice
Produced by Cocksackie B₁ and Encephalo-
myocarditis Viruses.
Experientia 28/3 (1972), S. 310-311
- (20) BURCH, G.E., TSUI, C.Y., HARB, J.M., COLCOLOUGH, H.L.:
Mural and valvular endocarditis of mice
infected with encephalomyocarditis (EMC) virus.
Exp. Molec. Path. 14 (1971), S. 327-336
- (21) BURCH, G.E., TSUI, C.Y., HARB, J.M., COLCOLOUGH, H.L.:
Pathologic Findings in the Pancreas of Mice
Infected with Cocksackievirus B₄.
Arch. Intern. Med. 128 (1971), S. 40-47
- (22) LeCOMPTE, P.M.:
"Insulitis" in Early Juvenile Diabetes
Arch. Path. 66 (1958), S. 450-457
- (23) CHAIREZ, R., NOTKINS, A.L.:
Virus-Induced Diabetes Mellitus.
X. Attachment of Encephalomyocarditis Virus
and Permissiveness of Cultured Pancreatic β
Cells to Infection.
Virology 85 (1978), S. 606-611

(25) CHAMKOW, K.M.:

A highly efficient method of cell Inf.
with EMC-Virus.
Acta Virol (Praha) 4 (1980), S. 225-231

(26) CHARDONNET, Y., LYON, M., SOULA, A.:

Identification of the Adenovirus Components
During the Penetration in HeLa Cells by
Immunofluorescence Technique.
Archives of Virology, 54 (1977), S. 189-199

(27) COLEMAN, T.J., GAMBLE, D.R., TAYLOR, K.W.:

Diabetes in Mice after Coxsackie B₄
Virus infection.
British med. J. 3 (1973), S. 25-27

(28) COLTER, J.S., CAMPBELL, J.B., HATCH, L.R.:

The pathogenicity to mice of three variants
of Mengo encephalomyelitis virus.
J. Cell. Comp Physiol. 65 (1965), S. 229-236

(29) CRAIGHEAD u.a.:

Experimental models of juvenile onset
Diabetes Mellitus (insulin dependent)
Monogr. Pathol. 21 (1980), S. 166-176

(30) CRAIGHEAD, J.E.:

Necrosis of the Pancreas, Parotid and
Lacrimal Glands associated with Ence-
phalomyocarditis virus Infection.
Nature 207 (1965), S. 1268-1269

(31) CRAIGHEAD, J.E.:

Pathogenicity of the M and E Variants of the
Encephalomyocarditis (EMC) Virus.
Am. J. Pathol. 48 (1966), S. 333-341

(32) CRAIGHEAD, J.E.:

Pathogenicity of the M and E Variants of the
Encephalomyocarditis (EMC) Virus.
II. Lesions of the Pancreas, Parotid and
Lacrimal Glands.
Am. J. Pathol. 48.1 (1966), S. 375-386

- (33) CRAIGHEAD, J.E.:

Some properties of the encephalomyocarditis,
Columbia SK and Mengo viruses.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 119 (1965)
S. 408-412

- (34) CRAIGHEAD, J.E.:

The role of viruses in the pathogenesis of
pancreatic disease and diabetes mellitus.
Prog. Med. Virol. 19 (1975), S. 161-214

- (35) CRAIGHEAD, J.E., HIGGINS, D.A.:

Genetic Influences affecting the Occultence
of a diabetes mellitus-like Disease in Mice
infected with the Encephalomyocarditis Virus.
J. Exp. Med. 139 (1974), S. 414-426

- (36) CRAIGHEAD, J.E.:

Lesions of the Islets of Langerhans in
Encephalomyocarditis Virus-Infected Mice
with Diabetes Mellitus-Like Disease
Am. J. Pathol. 74 (1974), S. 287-300

- (37) CRAIGHEAD, J.E., McLANE, M.F.:

Diabetes mellitus: Induction in Mice by
Encephalomyocarditis Virus
Science 162 (1968), S. 913-914

- (38) CRAIGHEAD, J.E., SHELOKOV, A.:

Encephalomyocarditis virus hemagglutination-
inhibition test using antigens prepared in
HeLa cell cultures.
Proceedings of the Society for exp. Biol.
and Med. 108 (1961), S. 823-826

- (39) CRAIGHEAD, J.E., STEINKE, J.:

Diabetes Mellitus-like Syndrome in Mice
Infected with Encephalomyocarditis Virus.
Amer. J. Pathol. 63 (1971), S. 119-134

- (40) CUDWORTH, A.G.:

HL-A antigens and diabetes mellitus
Lancet II (1974), S. 1153

- (41) DALLDORF, G., GIFFORD, R.:

Adaptation of Group B Coxsackie virus to
adult mouse pancreas.
J. Exp. Med. 96 (1952), S. 491

- (42) DICK, G.W.A.:

The relationship of Mengo encephalomyelitis,
encephalomyocarditis, Columbia SK and
M.M. viruses.
J. Immun. 62 (1949), S. 375-386

- (43) DICK, G.W.A., BEST, A.M., HADDOW, A.J., SMITHBURN, K.C.:

Mengo-encephalitis, a hitherto unknown virus
affecting man.
Lancet II (1948), S. 286-288

- (44) DILGER, J., LIEBICH, H.M., MAULBETSCH, R.H.:

Vergleich zwischen reflektometrischer
Blutglucosebestimmung mittels Reflotest -
System und klinisch-chemische Routinemethoden.
Therapiewoche 25 (1975), S. 5195

- (45) DULIN, W.E., CHANG, A.Y., GERRITSEN, G.C.:

Comparison of Diabetes mellitus in the
chinese hamster, KK mouse and db-mouse.
International Congress Series No. 231
Proceedings of the seventh congress of the
International Diabetes Fed. 1971

- (46) DUNN, J.B., SHENAN, H.C., McLEITCHIE, N.G.B.:

Necrosis of Langerhans islets produced
experimentally.
Lancet I (1943), S. 484

- (47) EGEBERG, J., NERUP, J., ANDERSEN, O.O., BENDIXEN, C.,
POULSEN, J.E.:

Morphology of experimental, organspecific
Insulitis of the Mouse Pancreas.
Acta Endocr. 83 (1976), S. 133-150

- (48) ELLEM, K.A.O., COLTER, J.S.:

The Isolation of Three variants of Mengo
virus differing in plaque morphology an
hemagglutinating characteristics.
Virology 15 (1961), S. 340-347

- (49) FABER, P.A., GLASGOW, L.A.:

Factors modifying host resistance to mice
to encephalomyocarditis (virus) infection
during pregnancy.
Am. J. Pathol. 53 (1968), S. 463

- (50) FABIYI, A., ENGLER, R., MARTIN, D.C.:

Physical Properties of Infectious Unit,
Hemagglutinin and Complement-Fixing Antigen
of ECHO Virus 19.
Arch. d. ges. Virusf. 14 (1964), S. 621-627

- (51) FALKE, D., herausgegeben von P. Klein:

Virologie.
Springer, Heidelberger TB 178 (1977)

- (52) FELIG, P., WAHREN, J., SHERWIN, R., HENDLER, R.:

Insulin and glucagon in normal physiology
and diabetes.
Diabetes 25 (1976), S. 323

- (53) FERNER, H.:

Das Inselsystem des Pankreas.
Georg Thieme Stuttgart (1952)

- (54) FORSFREN, M.:

Separation of ECHO Virus Type 6
Antigens by Centrifugation in Caesium
Chloride Density Gradients.
Arch. f.d.ges. Virusf. 28 (1969), S. 19-25

- (55) FREYTAG, G.-H.:

Immunpathologie des Diabetes mellitus.
Tierexperimentelle Studie zum Anti-Insulin-
Serum - Diabetes.
Veröffentlichungen aus der Morphologischen
Pathologie 88, Stuttgart, (1972)

- (56) FREYTAG, G., KLÖPPEL, G., HOWE, I.:

60. Zur Pathogenese der experimentellen
Insulinitis.
Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft
für Pathologie, Bd. 53 (1969)

- (57) FRIEDMAN, S.B., GROTA, L.J., GLASGOW, L.A.:
Differential susceptibility of male and female mice to encephalomyocarditis virus: Effects of castration, adrenalectomy, and the administration of sex hormones.
Infect. Immun. 5 (1972), S. 637-644
- (58) FROM, G.L.A., CRAIGHEAD, J.E., McLANE, M.F., STEINKE, J.:
Virus Induced Diabetes in Mice.
Metab. Clin. Exp. 17,2 (1968), S. 1151-1158
- (59) FROMMHAGEN, L.H.:
The separation and physicochemical properties of the C and D antigens of Coxsackie virus.
J. Immunol. 95 (1965), S. 818-822
- (60) FÜNER, B.:
Untersuchungen über die Neutralisation des Encephalomyocarditisvirus der Maus.
Universität Hamburg med. Fak. Diss. 1972
- (61) FUERST, C.R.:
Plaque - type mutants of murine encephalomyocarditis virus.
Virology 13 (1961), S. 553-554
- (62) GAMBLE, D.R.:
Viruses and Diabetes: An overview with special reference to epidemiological studies. Proceedings of the IX. Congress of the International Diabetes Federation.
International Congress Series No. 413 (1977) S. 283-293
- (63) GAMBLE, D.R., KINSLEY, M.L., FITZGERALD, M.G., BOLTON, R., TAYLOR, K.W.:
Viral Antibodies in Diabetes Mellitus.
Brit. med. J. 3 (1969), S. 631-633
- (64) GAMBLE, D.R., TAYLOR, K.W.:
Seasonal Incidence of Diabetes Mellitus.
Brit. med. J. 3 (1969), S. 627-630

- (65) GAMBLE, D.R., TAYLOR, K.W., CUMMING, H.:
Coxsackie Virus and Diabetes Mellitus.
Brit. med. J. 4 (1973), S. 260-262
- (66) GAMBLE, D.R., TAYLOR, K.W.:
Diabetes after coxsackie B infection.
Brit. Med. J. 111 (1973), S. 289-290
- (67) GEPTS, W.:
Pathologic anatomy of the pancreas in
juvenile diabetes mellitus.
Diabetes 14 (1965), S. 619-633
- (68) GIBBS, P.:
Three Cases of Acute Ketotic Diabetes
Mellitus with Myocarditis: A Common Viral
Origin?
Brit. Med. J. 3 (1974), S. 781-783
- (69) GIRON, D.J., PATTERSON, R.R., HILLMANN, A., FOWLER, A.K.:
Enhancement of encephalomyocarditis virus
replication in L-cells treated with insulin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 166, 2 (1981),
S. 305-309
- (70) GREEN, E.L. (Ed):
Biology of the Laboratory Mouse,
McGraw-Hill Book Company (1966)
- (71) GRÜNKLEE, D. u.a.:
Zusammenhänge des Insulinmangelsyndroms
(Diabetes mellitus vom jugendlichen Typ)
mit Immunreaktionen.
Unveröffentlichte Unterlage 1978
- (72) GUNDERSON, E.:
Is diabetes of infectious origin?
J. Infect. Dis. 41 (1927), S. 197-202

- (73) HADDEN, D.R., CONNOLLY, J.H., MONTGOMERY, D.A.,
WEAVER, J.A.:
Coxsackie B Virus and Diabetes.
Brit. Med. J. 4 (1972), S. 729
- (74) HANN, S., KAYE, R., FALKNER, B.:
Subpopulations of Peripheral Lymphocytes
in Juvenile Diabetes.
Diabetes 25/2 (1976), S. 101-103
- (75) HAYASHI, K., BOUCHER, D.W., NOTKINS, A.L.:
Virus Induced Diabetes Mellitus:
II. Relationship Between Beta Cell Damage
and Hyperglycemia in Mice Infected with
Encephalomyocarditis Virus.
Am. J. Path. 75 (1974), S. 91-100
- (76) HELLQUIAT, L., TAYLOR, K.W.:
Biochemical Alterations in Isolated Islets
of Langerhans following EMC-Virus Infection.
Diabetologica Nr. 3 (1981), S. 281
- (77) HELWIG, F.C., SCHMIDT, E.C.:
A filter-passing agent producing interstitial
myocarditis in anthropoid apes and small
animals.
Science 103 (1945), S. 31-33
- (78) HEREMANS, J.F.:
Antigens, immunogens and auto-immunity./ &
Discussion.
International Congress Series No. 316 (1974),
S. 3-28
- (79) HIRSCHFELD, F.:
Über infektiöse Entstehung der chronischen
Pankreatitis und des Diabetes.
Berl. Klin. Wschr. 45 (1908), S. 537-542
- (80) HUBERT, C., DUCHATEAU, J., KENNES, B., DELESPESE, G.:
B- and T-lymphocytes in diabetes mellitus.
Preliminary results.
International Congress Series No. 316 (1974),
S. 115-120

- (81) IRVINE, W.J.:
Organ-specific autoimmunity in diabetes mellitus and correlations with other endocrine disorders.
Proceedings of the IX. Congress of the International Diabetes Federation.
International Congress Series No. 413 (1977), S. 260-272
- (82) IVIC, M.: Neue selektive Färbungsmethode der A- und B-Zellen der Langerhansschen Inseln.
Anat. Anz. 107 (1959), S. 347-350
- (83) JAMISON, M.R., MAYOR, H.D.:
Comparative Study of Seven Picornaviruses of Man.
J. Bacteriol. 91/5 (1966), S. 1971-1976
- (84) JANSEN, F.K., MÜNTEFERING, H., SCHMIDT, W.A.K.:
Virus induced diabetes and the immune system.
I. Suggestion that appearance of diabetes depends on immune reactions.
Diabetologica 13 (1977), S. 545-549
- (85) JONKERS, A.H.:
Serosurvey of encephalomyocarditis virus neutralizing antibodies in southern Louisiana and Peruvian Indian populations.
Am. J. Trop. Med. 10 (1961), S. 593
- (86) KAHN, R.C.:
Autoantibodies to the insulin receptor: clinical and molecular aspects.
Federation Proceedings 12 (1979), S. 2607-2609
- (87) KARGER: Classification and nomenclature of viruses.
New York (1976)
- (88) KATTERMANN, R., NAROSKA, I.:
Quantitative Schnellbestimmung der Blutglucose mit der Reflomat-Methode.
Dtsch. med. Wschr. 99 (1974), S. 2603-2605

- (89) KETTENDÖRFER, H.:

Untersuchung über Krankheitsentwicklung,
Altersverlauf und Körperzusammensetzung
bei Mäusen (gg-diab) mit hereditär bedingtem
latentem Diabetes.
Hannover Tierärztliche Hochschule, Diss. 1976

- (90) KIMMELSTIEL, P., KIM, O.J., BERES, J.:

Studies on renal biopsy specimens with
aid if the electron microscope.
I. Glomeruli in diabetes.
Amer. J. clin. Path. 38 (1962), S. 270-279

- (91) KISSLING, R.E., VANELLA, J.M., SCHAFFER, M.:

Recent isolations of encephalomyocarditis
virus.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 91 (1956), S. 148-150

- (92) KOCH, F.: Die Encephalomyocarditis (EMC) und ihre

Abgrenzung von der Polyimyelitis.
Z. Kinderheilkunde 68 (1950), S. 328

- (93) KOCHMANN, M., MASTALEREZ, P., INGLOT, A.D.:

Inhibition of Encephalomyocarditis Virus
Replication by simple Phosphonic and
Carboxylic Acids.
Nature 207 (1965), S. 888-890

- (94) KOLB, H. u.a.:

Analyse von Autoimmunreaktionen gegen
Inselzellen bei Mäusen.
Unveröffentlichte Unterlage (1979)

- (95) KRAUS, E.J.:

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen
des Pankreas beim Diabetes mellitus.
In: LUBARSCH, HENKE: Handbuch der speziellen
pathologischen Anatomie und Histologie,
5. Band: Verdauungsdrüsen,
2. Teil: Kopfspeicheldrüsen, Bauchspeichel-
drüse etc.
Julius Springer Prag (1929)

- (96) KREMER, H.U.:

Juvenile diabetes as equal to mumps.
Amer. J. med. 3 (1947), S. 257-258

- (97) KROMANN, H., WESTERGAARD, B.F., EGEBERG, J., NERUP, J.:
Low and high dose encephalomyocarditis virus
infection in mice.
Intern. Congress Series No. 280 (1973),
S. 3920-
- (98) LE COMPTE, P.M., LEGG, M.A.:
Insulinitis (Lymphocytic infiltration of
pancreatic islets) in Late-onset Diabetes.
Diabetes 21 (1972), S. 762
- (99) LEHMANN-GRUBE, F.:
Die Viren der Encephalomyocarditis-Gruppe
und ihre Bedeutung für Erkrankungen des
Menschen.
Fortschr. Neurol. Psychiat. 25 (1957),
S. 265-197
- (100) BOISSEAU, V.C., AVIOLI, L.V.:
Effects of Diabetes Mellitus on Bone Mass
in Juvenile and adult-onset Diabetes.
N. Engl. J. Med. 294 (1976), S. 241-245
- (101) LEVY, N.L., NOTKINS, A.L.:
Viral Infections and Diseases of the
Endocrine System.
J. Inf. Dis. 124 (1971), S. 94-103
- (102) LIKE, A.A., ROSSINI, A.A.:
Streptozotocin-Induced Pancreatic Insulinitis:
New Model of Diabetes Mellitus.
Science 193 (1976), S. 415-417
- (103) LIKE, A.A., STEINKE, J., JONES, E.E., CAHILL, G.F.:
Pancreatic Studies in Mice with Spontaneous
Diabetes Mellitus.
Amer. J. Path. 46 (1965), S. 621-644
- (104) LIPPMANN, H.G., WAPPLER, E., JUTZI, E.:
V. Internationales Symposium über
Diabetesfragen,
Der Diabetes mellitus im Kindesalter.
Karlsburg 1966

(105) LUFT, R. (Ed.):

Insulin.
Amsterdam (1976)

(106) MAK, W.M., O'CALLAGHEN, D.J., COLTER, J.S.:

Studies of ten early events of the
replicative cycle of menges encephalomyelitis
virus in Mouse fibroblast Cells.
Virology 42 (1970), S. 1087-1096

(107) MACLEAN, N., OGILVIE, R.F.:

Observation on the pancreatic islet tissue
of young diabetic subjects.
Diabetes 8 (1959), S. 83-91

(108) MADRY; M.:

Untersuchungen über den Einfluß der Er-
nährung auf einige Leistungseigenschaften
verschiedener Mäuseinzuchtlinien.
Berlin Humboldt Universität,
Diss. Biowiss. Fak. (1972)

(109) MAHMOUD, A.A.F., CHEEVER, A.W., WARREN, K.S.:

Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus
and the Host-Parasite Relation in Murine
Shistosomiasis Mansoni.
J. Inf. Dis. 131/6 (1975), S. 634-642

(110) MAHMOUD, A.A.F., RODMAN, H.M., MANDEL, M.A., WARREN, K.S.:

Induced and Spontaneous Diabetes Mellitus
and Suppression of Cell-Mediated Immunologic
Responses.
Granuloma Formation, Delayed Dermal
Reactivity, and Allograft Rejection.
J. of Clin. Invest. 57 (1976), S. 362-367

(111) MALAISSE, W.J., MALAISSE-LAGUE, J., COLEMAN, D.J.:

Insulin secretion in experimental obesity.
Metabolism 17 (1968), S. 802-807

(112) MATTHEWS, R.E.F. (Hrsg.):

Classification and Nomenclature of Viruses.
Basel/New York (1979)

- (113) McCLINTOK, P.R., BILLUPS, L.C., NOTKINS, A.C.:
Réceptors for encephalomyocarditis Virus
on murine and human cells.
Virology 106 (1980), S. 261- 272
- (114) MELNIK, u.a., COCKBURN, W.X., DALLDORF, G., GARD, S.,
GEAR, J.H.S., HAMMON, W.M., KAPLAN, M.M.,
NAGLER, F.P., OKER-BLOM, N., RHODES, A.J.,
SABIN, A.B., VERLINDE, S.D., v.MAGNUS, H.:
Picornavirusgroup.
Virology 19 (1963), S. 114-116
- (115) MELNIK, J.L., GODMAN, G.C.:
Pathogenesis of coxsackie virus infection.
Multiplication of virus and evolution of
the muscle lesion in mice.
J. exp. Med. 93 (1951), S. 247-266
- (116) MÖLLER, G.:
Survival of H-2 Incompatible Mouse
Erythrocytes in Untreated and Isoimmune
Recipients.
Immunology 8 (1965), S. 360-374
- (117) MORROW, P.L., FREEDMAN, A., CRAIGHEAD, J.E.:
Testosterone Effect on Experimental Diabetes
mellitus in Encephalomyocarditis (EMC) Virus
infected Mice.
Diabetologica 18 (1980), S. 247-249
- (118) MÜNTEFERING, H.:
Experimental virus induced diabetes mellitus
accompanied by insulinitis.
Experta Medica Amsterdam New York,
in: Immunity and autoimmunity in diabetes
mellitus. Eds. Bastenie, P.A. and Gepts, W.
(1974), S. 234
- (119) MÜNTEFERING, H.:
Zur Pathologie des Diabetes mellitus der
weißen Maus bei der EMC-Virusinfektion.
Histologische, elektronenmikroskopische und
quantitativ morphologische Befunde an den
Langerhansschen Inseln.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 356,
(1972), S. 207-234

(120) MÜNTEFERING u.a.:

Virusinfektion und Diabetes mellitus
I. Morphologische Befunde.
Unveröffentlichte Unterlage (1973-1974)

(121) MÜNTEFERING u.a.:

Virusinfektion und Diabetes mellitus.
II. Virologische Befunde.
Unveröffentlichte Unterlage (1973-1974)

(122) MÜNTEFERING u.a.:

Virusinfektion und Diabetes mellitus
III. Klinisch-chemische Befunde.
Unveröffentlichte Unterlage (1973-1974)

(123) MÜNTEFERING u.a.:

Virusinfektion und Diabetes mellitus.
Unveröffentlichte Ergebnisse (1975/76)

(124) MÜNTEFERING, H., SCHMIDT, W.A.K., KIEKER, W.R.:

Passing insulinitis in virus-induced diabetes
mellitus in white mice.
Histologiccal, ultrastructural and immuno-
fluorescent-optical findings
International Congress Series No. 280
Abst. of the 8. Congress of the international
Diabetes Federation (1973)

(125) MÜNTEFERING und KOLB:

Virusinfektion und Diabetes mellitus.
Unveröffentlichte Unterlage 1979

(126) MÜNTEFERING, H., SCHMIDT, W.A.K., KÖRBER, W.:

Experimenteller Beitrag zur Virusgenese
des Diabetes mellitus bei der weißen Maus.
Verh. dtsh. Ges. Path. 54 (1970), S. 669-670

(127) MÜNTEFERING, H., SCHMIDT, W.A.K., KÖRBER, W.:

Zur Virusgenese des Diabetes mellitus
bei der weißen Maus.
Dtsch. med. Wschr. 96/16 (1971), S. 693-697

- (128) MÜNTEFERING, H., SCHMITZ, W., JANSEN, F.K., PETERSEN, K.G.:
The Role of Transitory Insulitis in the
Pathogenesis of experimental Virus Diabetes.
International Congress Series No. 500,
Proceedings of the Diabetes Federation, 9-14
(1979), S. 395-401
- (129) MUNGER, B.L.:
A Light and Electron Microscopic Study
of Cellular Differentiation in the
Pancreatic Islets of the Mouse
Am. J. Anat. 103 (1958), S. 275-311
- (130) MURNANE, T.G., CRAIGHEAD, J.E., MONDRAGON, H.,
SHELOKOV, A.:
Fatal disease of swine due to encephalomyocar-
ditis virus.
Science 131 (1960), S. 498-499
- (131) NAUMANN, S.:
Histometrische Untersuchungen am Inselorgan
des Pankreas bei Mäusen der Linie gg-anti
im Vergleich zu Tieren der Linie gg-diab
mit latentem Diabetes.
Hannover Tierärztliche Hochschule,
Diss. 1978
- (132) NEEL, J.V., FAJANS, S.S., CONN, J.W., DAVIDSON, R.T.:
Diabetes mellitus in Genetics and the
epidemiology of chronic diseases.
Genetic and epidemiology of chronic diseases.
Ann. Arbr. Mich. 1963, S. 105
- (133) NERUP, J., PLATZ, R., ANDERSEN, O.O., CHRISTY, M.,
LYNGSE, POULSEN, J.W., RYDER, L.P., STAUB,
NIELSEN, L., THOMSON, M., SVEJGAARD, A.:
HL-A antigens and diabetes mellitus.
Lancet II (1974), S. 864
- (134) NOTKINS, A.L.:
Virus Induced Diabetes Mellitus
(Brief Review)
Arch. of Virology 54 (1977), S. 1-17

- (135) ONODERA, T., BENNET-JENSON, A., YOON, J.W., NOTKINS, A.L.:
Virus-Induced Diabetes mellitus:
Reovirus Type I Infection of Pancreatic
Alpha, Beta and D Cells in Mice.
Federation Proceedings 12 (1979), S. 911
- (136) ONODERA, T., YOON, J.W., BROWN, K.S., NOTKINS, A.L.:
Evidence for a Single Locus controlling
susceptibility to Virus induced Diabetes
mellitus.
Nature 272 (1978), S. 693-696
- (137) PEARSE, A.G.E.:
Neurocrinopathy, Neuroendocrine
Pathology and the APUD Concept
Z. Krebsforsch. 84 (1975), S. 1-18
- (138) PETERSEN, K.G., MÜNTEFERING, H.:
Function of Langerhans' islets in EMC-virus
induced diabetes Syndrome of DBA/2 mice.
Diabetologica 12 (1976), S. 414
- (139) PLANTEROSE u.a.:
The purification of vaccinia virus from
cell cultures.
Virology 18 (1962), S. 294-301
- (140) PTAK, W.: Macrophage function in alloxan-diabet. mice:
expression and activity of Fc-receptors.
J. Clin. Lab. Immun. 5(2) (1981), S. 121-124
- (141) REED, L.J., MUENCH, H.:
A simple method of determining 50 % endpoints.
Am. J. Hyg. 27 (1938), S. 493-497
- (142) RICK, W., WEISTE, H.G., MÜNTEFERING, H., SCHMIDT, W.A.K.:
Plasma insulin and blood glucose levels in
virus-induced insulinitis.
International Congress Series No. 280 (1973)
S. 3920
- (143) ROCA-GARCIA- M., SANMARTIN-BARBERI, C.:
The isolation of encephalomyocarditis virus
from aïtus monkeys.
Amer. J. trop. Med. Hyg. 6 (1975), S. 840-852

- (144) ROSS, M.E., ONODERA, T., BROWN, K.S., NOTKINS, A.L.:
Virus-induced Diabetes mellitus
IV. Genetic and Enviromental Factors
Influencing the Development of Diabetes
After Infection with the M Variant of
Encephalomyocarditis Virus.
Diabetes 25 (1976), S. 190-197
- (145) ROSS, M.E., ONODERA, T., HAYASHI, K., NOTKINS, A.L.:
Virus induced Diabetes mellitus
V. Viological Difference between the
M-Variant and Other Strains of
Encephalomyocarditis Virus.
Inf. Immun. 12 (1975), S. 1224-1226
- (146) SAPHIR, O.:
Encephalomyocarditis.
Circulation 6 (1952), S. 843
- (147) SCHEIBENREITER, S., THALHAMMER, O.:
Kindlicher Diabetes mellitus infolge
fetalen Inselschädigung?
Zur Hypothese von Cornelia van Beek.
Dtsch. med. Wschr. 91/5 (1966)
- (148) SCHIEK, W.:
Strukturanalytische Untersuchungen an
mensenpathogenen Viren mit der Methode
der Gradientenzentrifugierung.
Forschungsberichte des Landes Nordrhein-
Westfalen Nr. 2709 Fachgr. Med. (1978)
- (149) SCHMIDT, W.A.K.:
Untersuchungen über die Antigenkomponenten
einiger Coxsackie- und ECHO-Viren und ihre
Antikörper.
Arch. ges. Vir.forsch. 33 (1971), S. 77-87
- (150) SCHMIDT, W.A.K., HILLEBRAND, B., KLEIN, M.:
Physikochemische und serologische Eigen-
schaften der C- und D-Komponenten einiger
Enteroviren.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 225,
S. 449-458

- (151) SCHMITZ, W., MÜNTEFERING, H., KORDIAN, C.:
Die Lysosomen der Herzmuskelzelle im
Ablauf der EMC-Virus-Schädigung.
Universität Düsseldorf Med. Fak.
Diss. 1978
- (152) SEBENING, W.:
Folgezustände nach akuter Pankreasnekrose.
Med. Klin. 23, 1 (1927), S. 551-556
- (153) SEIFERT, G.:
Die pathologische Anatomie des Insel-
apparates beim juvenilen Diabetes mellitus.
Dtsch. med. Wschr. 91 (1966), S. 778-779
- (154) SMADEL, J.E., WARREN, J.:
The virus of encephalomyocarditis and its
apparent causation of disease in man.
J. Clin. Invest. 26 (1947), S. 1197
- (155) SOHAL, R.S., BURCH, G.E.:
Ultrastructural Lesions of the Myocardial
Cell in Coxsackie B₄ Virus Infected Mice.
Virchows Arch. Abt. A Path. Anat. 346 (1969)
S. 361-373
- (156) SOMMER, R., HERBINGER, W.:
Blutzuckerbestimmung mit Reflomat.
Dtsch. med. Wschr. 100 (1975), S. 1697-1701
- (157) SPAHN, U1:
Characteristic of juv. Diab. mell.
Z. ärztl. Fortbildung 13-14 (1980), S. 670-672
- (158) SPEIR, R.W.:
pH and thermal stability of mengo virus.
Virology 17 (1962), S. 588-592
- (159) STEBBING, M., GRANTHAM, C.A., KAMINSKI, F.,
LINDELEY, I.J.D.:
Protection of mice against Encephalomyocarditis
virus infection by Preparations of transfer
RNA.
J. gen. Virol. 34 (1977), S. 73-85

- (160) STEWARD, A.G., GRANTHAN, C.A., DAWSON, K.M.,
STEBBING, N.:
The antiviral activity of ribosomal
polynucleotides against EMC-Virus infect.
of mice.
• Arch. of. Virol. 66 (1980), S. 283-291
- (161) TAYLOR, K.W. (Chairman)
Insulinitis: Viral Origin?
International Congress Series No. 316
(1974), S. 227-254
- (162) TELFER BRUNTON, W.A., PERCY-ROBB, I.W.:
Methods for measuring plasma or blood
glucose in the clinic: a short review.
Amer. Heart Journal 94 (1977), S. 533-536
- (163) THURNER, J.:
Eine endemische Myokarditis im Raum
Salzburg, wahrscheinlich Coxsackie-
Virus-Myokarditis.
Wiener klin. Wschr. 86.Jg. (1974)
- (164) TONIOLO, A., ONODERA, T., YOON, J.W., NOTKINS, A.L.:
Induction of diabetes by cumulative
enviromental insults from viruses and
chemicals.
Nature 288 (1980), S. 383-385
- (165) TSOTSALAS, M., KIEKER, W.-R.:
Kristallisationsverhalten und cytopathogene
Effekte verschiedener EMC-Virusstämme in
Kultur- und Organzellen.
Universität Düsseldorf Med. Fak.
Diss. 1974
- (166) TSUI, C.Y., BURCH, G.E., COLCOLOUGH, H.L., HARB, J.M.:
Early myocardial lesions in encephalo-
myocarditis (EMC) virus infected mice
Cardiovasc. Res. 5 (1971), S. 559-557
- (167) UNGER, R.H.:
The Organ of Langerhans on New Perspective.
Am.J. Med. Sci. 260 (1970), S. 79-81

- (168) VERLINDE, J.D., TONGEREN, H.A.E. van:
Human infection with viruses of the
Columbia-SK group.
Arch. f.d. ges. Virusforsch. 5 (1953),
S. 217-221
- (169) VIALETES, B., BEAUME, D., SIMON, M.C.,
LASSMAN, V., VAGUE, P.:
Assessment of the Role of Immune Reaction
in EMC Virus-Induced Diabetes by the
Effects of Early and Delayed cyclosporin,
a Treatment in Mice.
Diabetes 19 (1980), S. 322-323
- (170) VOLK, B.W., WELLMANN, K.F., BRANCATO, P.,
AMSTERDAM, D.:
Fine Structure of Mouse Pancreas after
Infection with E- and M-Variant of
Encephalomyocarditis Virus.
Diabetes 21 (1972), S. 338
- (171) WARREN, J., SMADEL, J.E., RUSS, S.B.:
The family relationshp of encephalo-
myocarditis, Columbia-SK, M.M. and
Mengo encephalomyelitis viruses.
J. Immunol. 62 (1949), S. 387-398
- (172) WARREN, S., LECOMPTE, P.M., LEGG, M.A.:
The Pathology of diabetes mellitus;
4th ed (Lea & Febinger, Philadelphia), (1966)
- (173) WEINSTEIN, L., CHANG, T.-W.:
Effect of "Sex of Tissue Cultures" on
Growth of Endephalomyocarditis Virus.
Proc. Soc. Ecp. Biol. 108 (1961), S. 471-474
- (174) WEISTE, H.-G.:
Klinisch-chemische Untersuchungen zur
Virusinsulitis der weißen Maus.
Universität Düsseldorf med. Fak.
Diss. 1975

- (175) WELLMANN, K.F., AMSTERDAM, D., BRANCATO, P.,
VOLK, B.W.:
Fine structure of pancreatic islets of
mice infected with the M-Variant of the
encephalomyocarditis virus.
Diabetologica 8 (1972), S. 349-357
- (176) WELLMANN, K.F., VOLK, B.W., BRANCATO, P.,
AMSTERDAM, D.:
Encephalomyocarditis Virus (E-Variant)
in Mice. Pancreatic Changes.
Arch. Pathol. 95 (1973), S. 304-311
- (177) YOON, J.W., AUSTIN, M., ONODERA, T., NOTKINS, A.L.:
Virus induced Diabetes mellitus:
isolation of a virus from the pancreas of
a child with diabetic ketoacidosis.
N. Engl. J. Med. 300 (1979), S. 1173
- (178) YOON; J.W., LESNIAK, M.A., FUSSGANGER, R., NOTKINS, A.L.:
Genetic differences in susceptibility of
pancreatic B cells to virus-induced diabetes
mellitus.
Nature 264 (1976), S. 178-180
- (179) YOON, J.W., McCLINTOCK, P.R., ONODERA, T.,
NOTKINS, A.L.:
Virus-Induced Diabetes Mellitus
18. Inhibition by a Nondiabetic Variant
of EMC-Virus.
The J. of Experim. Med. 152 (1980), S. 878-892
- (180) YOON; J.W., NOTKINS, A.L.:
Virus-induced Diabetes mellitus.
VI. Genetically Determined Host Differences
in the Replication of Encephalomyocarditis
Virus in Pancreatic Beta Cells.
The J. of. Exper. med. 143 (1976),
S. 1170-1185
- (181) YOON, J.W., ONODERA, T., NOTKINS, A.L.:
Virus-induced Diabetes mellitus:
VIII. Passage of Encephalomyocarditis Virus
and Severity of Diabetes in Susceptible and Re-
sistant Strains of Mice.
J. gen. Virol. 37 (1977), S. 225-232

- (181) YOON, J.W., RODRIGUES, M., CURRIER, C.S., NOTKINS, A.L.:
Long Term Complications of Virus-induced
Diabetes mellitus.
Diabetes Vol. 30 (1981)

- (183) ZAHEER, TAGLAR, K.W., COLEMAN, T.J., GAMBLE, D.R.:
Biochemical and Ultrastructural Changes
in A und B cells of the islets of Langerhans
of mice infected with EMC-virus.
Diabetologica 17 (1979), S. 51-57

Nachtrag:

- (184) KRUPPENBACHER, J.P.:
Attends to select and isolate a strain
of EMC-Virus.
Zentralblatt für Bakteriologie,
Mikrobiologie und Hygiene, A 251 (1982)
S. 430 ff.
- (185) KRUPPENBACHER, J.P., MERTENS, Th., MÜNTEFERING, H.,
EGGERS, H.J.:
Diabetes-Inducing Encephalomyocarditis
virus (EMC) Variants
International Congress Series
Abstr. of the 39. Tagung der Deutschen
Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie,
in Press 1983

Maus- nummer	Gewicht (g)	Glucose- test	Blut (mL)	Tages- nummer	Nause- nummer	Gewicht (g)	Glucose- test	Blut (mL)
51	56			56				
52	57			57				
53	58			58				
54	59			59				
55	60			60				
56	61			61				
57	62			62				
58	63			63				
59	64			64				
60	65			65				
61	66			66				
62	67			67				
63	68			68				
64	69			69				
65	70			70				
66	71			71				
67	72			72				
68	73			73				
69	74			74				
70	75			75				
71	76			76				
72	77			77				
73	78			78				
74	79			79				
75	80			80				
76	81			81				
77	82			82				
78	83			83				
79	84			84				
80	85			85				
81	86			86				
82	87			87				
83	88			88				
84	89			89				
85	90			90				
86	91			91				
87	92			92				
88	93			93				
89	94			94				
90	95			95				
91	96			96				
92	97			97				
93	98			98				
94	99			99				
95	100			100				
96	101			101				
97	102			102				
98	103			103				
99	104			104				
100	105			105				
101	106			106				
102	107			107				
103	108			108				
104	109			109				
105	110			110				

Temperatur: ... °C	Luftfeuchtigkeit: %rel	Tag	Datum:
gestorbene Tiere Nr.:			
Besondere Vorkommnisse:			
Blutentnahme von Uhr bis Uhr			
Mäuse getötet von Uhr bis Uhr			
getötete Tiere:			
1.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
2.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
3.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
4.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
5.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
6.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
7.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
8.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
9.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
10.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
11.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
12.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			
13.) Maus Nr.: Virus:	Gewicht: g	Fixationsbeginn: Uhr	
Blutentnahme ca. ml:	Pankreas: Länge ca. mm:		
Besondere Bemerkungen:			

LEBENS LAUF

Am 4. März 1956 wurde ich als erstes Kind von Rolf Ibing und seiner Ehefrau Ilse Ibing geb. Wasserloos in Hattingen an der Ruhr geboren.

1960 zogen meine Eltern mit mir nach Hannover, wo ich eingeschult wurde.

1966 wechselte ich auf das Gymnasium - Goetheschule in Hannover-Herrenhausen - , entschied mich später für den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig und legte am 30.4.1975 die Reifeprüfung ab.

Von Juli bis Oktober 1975 arbeitete ich in einem Zahnlabor. Zum Wintersemester 1975/76 begann ich das Studium der Chemie in Hannover, wechselte jedoch nach einem Semester zur Universität Mainz, wo ich das Studium der Zahnmedizin begann.

Hier legte ich 1977 die Naturwissenschaftliche Vorprüfung, 1977 die Zahnärztliche Vorprüfung und 1981 die Zahnärztliche Prüfung ab.

Vom 1.1.1982 bis September 1983 war ich in der zahnärztlichen Praxis Dr. Hadeler in Hamburg als Ausbildungsassistent tätig und führe ab Oktober meine Ausbildung in der parodontologisch-gnathologisch orientierten Praxis von Herrn Zahnarzt Schlicht weiter.

